

TESIS DOCTORAL

Utilización de ultratrazas de metales pesados como trazadores de los efectos antropogénicos producidos en ecosistemas acuáticos

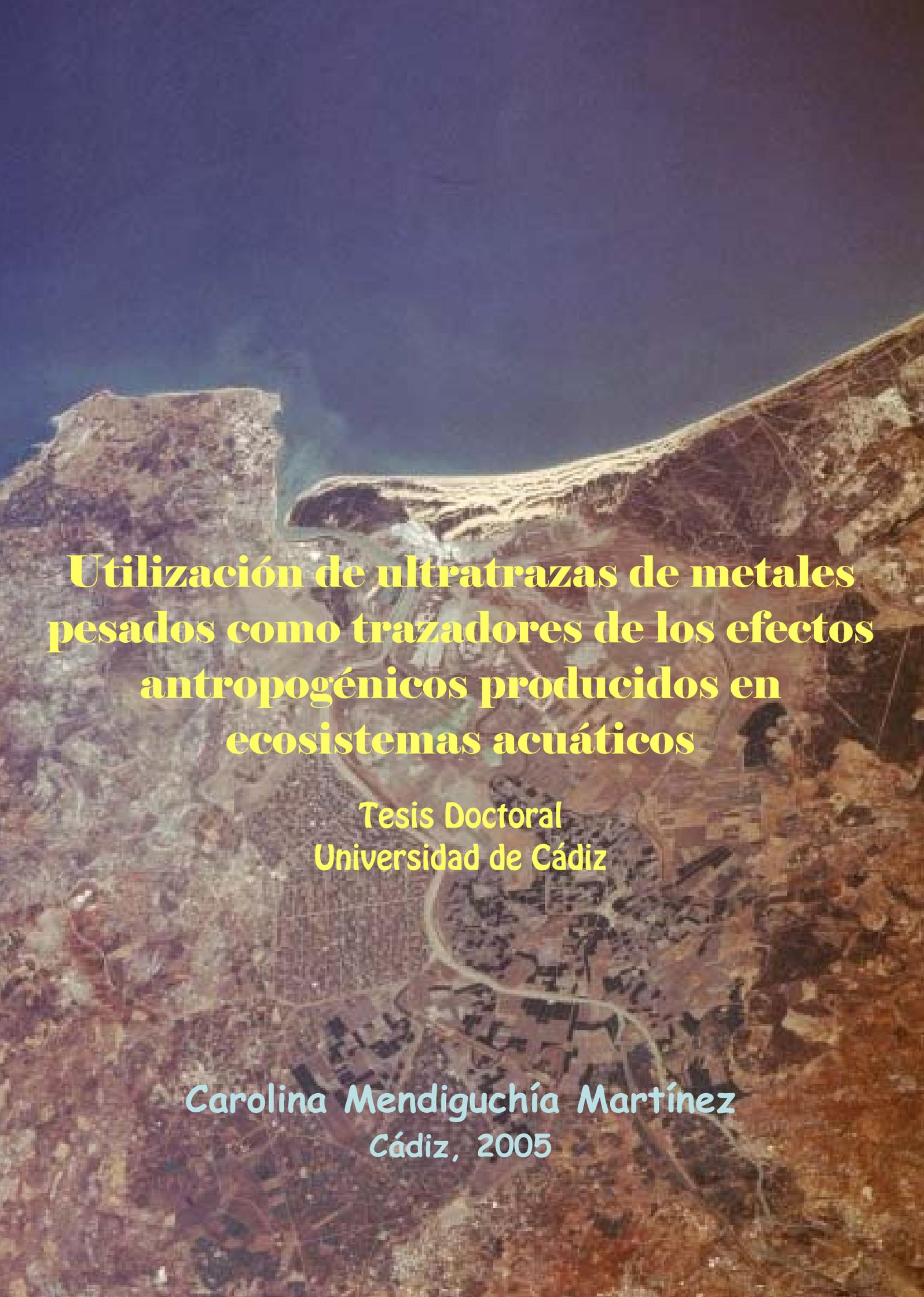
Carolina Mendiguchía Martínez

© Servicio de Publicaciones de la Universidad de Cádiz
El Autor

Edita: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Cádiz
C/ Doctor Marañón, 3. 11002 Cádiz
www.uca.es/publicaciones
publicaciones@uca.es

ISBN: 978-84-9828-083-8



An underwater photograph of a rocky seabed. The rocks are brown and textured. In the background, a diver is visible, wearing a white tank and a mask. The water is clear and blue.

Utilización de ultratrazas de metales pesados como trazadores de los efectos antropogénicos producidos en ecosistemas acuáticos

**Tesis Doctoral
Universidad de Cádiz**

**Carolina Mendiguchía Martínez
Cádiz, 2005**



UTILIZACIÓN DE ULTRATRAZAS DE
METALES PESADOS COMO TRAZADORES
DE LOS EFECTOS ANTROPOGÉNICOS
PRODUCIDOS EN ECOSISTEMAS
ACUÁTICOS

Tesis Doctoral

Carolina Mendiguchía Martínez

Cádiz, 2005.

D. Manuel García Vargas, Catedrático del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Cádiz y D. Carlos Moreno Aguilar, Profesor Titular del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Cádiz

CERTIFICAN

Que los trabajos realizados por la Licenciada en Ciencias del Mar Dña. **Carolina Mendiguchía Martínez** y recogidos bajo el título “*Utilización de ultratrazas de metales pesados como trazadores de los efectos antropogénicos producidos en ecosistemas acuáticos*” han sido realizados íntegramente en los laboratorios del Departamento de Química Analítica de esta Universidad bajo nuestra dirección, constituyendo la memoria necesaria para optar al grado de Doctor en Ciencias Químicas.

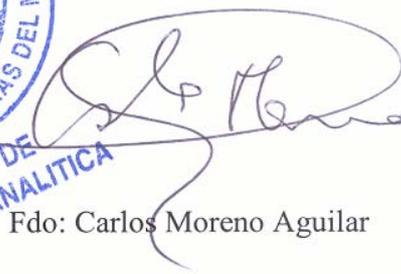
Y para que así conste, firmamos la presente certificación en Puerto Real a dieciséis de marzo de 2005.



Fdo: Manuel García Vargas



DPTO. DE
QUIMICA ANALITICA



Fdo: Carlos Moreno Aguilar

D. Jose Luis Hidalgo Hidalgo de Cisneros, Profesor Titular y Director del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Cádiz

CERTIFICA:

Que el presente trabajo, realizado íntegramente en los laboratorios de este Departamento bajo la dirección conjunta de los Profesores D. Manuel García Vargas y D. Carlos Moreno Aguilar, reúne las condiciones exigidas para optar al Grado de Doctor en Ciencias Químicas.

Y para que conste, expido y firmo el presente certificado, en Puerto Real a dieciséis de Marzo de 2005.



Fdo: Jose Luis Hidalgo Hidalgo de Cisneros

DPTO. DE
QUÍMICA ANALÍTICA

La Presente Tesis Doctoral forma parte de los estudios realizados bajo el soporte económico del proyecto “*Utilización de ultratrazas de metales pesados como trazadores de las actividades antropogénicas desarrolladas en ecosistemas acuáticos.*” (REN 2000-1101) del Plan Nacional de Investigación 2000-2003 del Ministerio de Educación y Cultura.

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

Publicaciones:

Mendiguchía, C.; Moreno, C; Galindo-Riaño, M.D. and García-Vargas, M. (2004) *Using chemometric tools to assess anthropogenic effects in river water. A case study: Guadalquivir River (Spain).* Analytica Chimica Acta **515**, 143-149.

Mendiguchía, C.; Moreno, C. and García-Vargas, M. (2002) *Separation of heavy metals in seawater by liquid membranes: Preconcentration of copper.* Separation Science and Technology **37**, 2337-2351.

Mendiguchía, C.; Moreno, C. and García-Vargas, M. (2002) *Determination of copper in seawater based on a liquid membrane preconcentration system.* Analytica Chimica Acta **460**, 35-40.

Congresos:

Using chemometrics tools to assess anthropogenic effects in river water. Guadalquivir river (Spain) C. Mendiguchía, C. Moreno, M.D. Galindo-Riaño y M. García-Vargas. V Colloquium Chemiometricum Mediterraneum, Italia, 25-27 de junio de 2003.

Aplicación de un sistema de preconcentración con membranas líquidas para la determinación de cobre en agua de mar. C. Mendiguchía, C. Moreno y M. García-Vargas. Reunión de la Sociedad Española de Química Analítica, Huelva, 19-21 de septiembre de 2001.

Desde estas líneas pretendo expresar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que durante estos años de trabajo han estado a mi lado, amigos, familia y compañeros, y que de una u otra forma han contribuido a que esta tesis haya llegado a buen fin.

Considero que todo aquel que ha tenido alguna relación conmigo durante el desarrollo de esta tesis merece mi total agradecimiento, ya que estoy segura de que en algún momento ha escuchado estoicamente quejas y lamentaciones, alegrías y satisfacciones, o entusiastas explicaciones del funcionamiento de una membrana líquida o de un equipo de absorción atómica. Si alguna de las personas que han pasado por mi vida en estos últimos años no se encontrara en estas líneas espero que no se sienta ofendida por ello, ya que puede estar segura de que responde a uno de mis habituales despistes.

Especialmente quisiera mostrar mi gratitud y más sincero cariño a D. Carlos Moreno Aguilar, por tener siempre la puerta abierta para resolver dudas, atender quejas y en general, solucionar todo tipo de problemas que han surgido en el desarrollo del trabajo. Para mí no solo ha sido el mejor Director de Tesis que he podido tener, sino que me ha demostrado en todo momento que es un amigo al que siempre podré recurrir.

Quisiera agradecer a D. Manuel García Vargas su apoyo constante y la gran confianza que ha depositado en mí como Director de esta Tesis y a lo largo de todas las tareas que bajo su dirección he realizado en el Departamento de Química Analítica de la Universidad de Cádiz, contando siempre con su inestimable consejo y experiencia.

A D. Manuel Pedro Mánuel Vez quiero agradecerle su desinteresada ayuda y su apoyo durante el trabajo diario, mostrándose accesible en todo momento para resolver las más variopintas cuestiones que han surgido a pie de laboratorio.

A Dña. María Dolores Galindo Riaño, que ha seguido de cerca el desarrollo de la presente tesis, quisiera agradecerle su estrecha colaboración en muchas de las tareas realizadas, así como su completa disposición a resolver cualquier duda o problema que se haya podido plantear.

A mis queridos compañeros, Juan, Gemma, Laura, Mostapha, Maripaz, Auxi y Antonio, algunos de los cuales ya han emprendido otros caminos y con quienes he compartido los mejores y peores momentos de estos años, debo agradecerles que a pesar de lo difícil del camino han conseguido que sólo las risas acompañen nuestro trabajo diario.

A todos mis compañeros de la Facultad de Ciencias, Mariló, Juanjo, Félix y Abdellah, así como al resto de compañeros del grupo de Investigación de Geoquímica Marina, Pilar Martínez, Miguel Milla, Juan Verdugo y Clara, con los que he compartido gran parte de mi trabajo les agradezco toda la ayuda que me han prestado así como los buenos momentos que he pasado en su compañía.

Le agradezco a Antonio Benítez todo lo que he aprendido trabajando junto a él y el haber sido compañero y guía indiscutible de mis primeros pasos en la técnica de espectroscopía de masas con plasma acoplado inductivamente.

Debo agradecer al personal de los barcos de la Junta de Andalucía, AMA 5 y AMA 6, especialmente a Alfredo y Miguel Ángel, su total colaboración en los muestreos realizados durante el desarrollo de este trabajo.

Quiero mostrar un agradecimiento especial a mis amigos más queridos, Antonio, Auxi, Cristina, Jero, Kiki, Mateo, Rojo, Quique, Oscar y Eva, que siempre han confiado en mi capacidad para finalizar este trabajo animándome a seguir hasta el final.

Les doy las gracias a mis hermanos, Miguel, Iván y Pablo que de tanto escucharme conocen mi trabajo tan bien como yo, por ser mi nexo de unión con el mundo real, ese que está tras las paredes de la Facultad. Y para que no me recuerden durante otros cinco años que me olvidara de ellos en los agradecimientos de mi Tesis de Licenciatura.

Pero mi mayor agradecimiento se lo debo a mis padres, por apoyarme en todas las decisiones que he tomado a lo largo de la vida, hayan sido buenas o malas, y especialmente por enseñarme a luchar por lo que quiero y a terminar lo que he empezado. Sin ellos nunca habría terminado esta Tesis Doctoral.

Quisiera expresar mi agradecimiento:

Al Ministerio de Educación y Cultura por el soporte económico recibido para la realización del presente trabajo.

A la Junta de Andalucía por poner todos los medios materiales a su alcance para la realización de las tomas de muestra desarrolladas a lo largo de este trabajo.

A los Servicios Centrales de Ciencia y Tecnología de la Universidad de Cádiz que por poner a nuestra disposición sus equipos e instalaciones.

Al Marine Sciences Research Center de la Universidad de Stony Brook (Nueva York) por su inestimable colaboración científica en gran parte de los trabajos realizados en la presente Tesis.

A mis padres

ÍNDICE

	pág.
OBJETIVOS	1
<u>CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN</u>	3
<u>FACTORES NATURALES QUE AFECTAN A LA COMPOSICIÓN DE LAS AGUAS</u>	5
<u>FACTORES ANTROPOGÉNICOS QUE AFECTAN A LA COMPOSICIÓN DE LAS AGUAS</u>	7
Actividades agrícolas	8
Estaciones depuradoras de aguas residuales	12
Descargas industriales	14
Actividades mineras	18
<u>USO DE ELEMENTOS TRAZADORES DE ACTIVIDADES ANTROPOGÉNICAS</u>	20
<u>ELEMENTOS TRAZA EN AGUAS NATURALES</u>	25
Elementos traza en ríos	27
Elementos traza en estuarios	30
<u>CAPÍTULO II. DESARROLLO EXPERIMENTAL</u>	35
<u>DETERMINACIÓN DE METALES TRAZA EN AGUAS NATURALES</u>	36
Toma de muestra	38
Almacenamiento de muestras	39
1. <u>Material para el almacenamiento</u>	40
2. <u>Conservación de muestras</u>	42
Separación y/o preconcentración	43

	pág.
Etapa de medida.....	46
1. <u>Espectroscopía de absorción atómica con atomización electrotérmica.....</u>	47
2. <u>Espectroscopía de emisión atómica con plasma acoplado por inducción.....</u>	50
3. <u>Espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción.....</u>	53
4. <u>Técnicas electroquímicas como la voltimetría de redisolución anódica y catódica.....</u>	58
5. <u>Otros métodos.....</u>	59
 <u>ESTUDIOS PRELIMINARES.....</u>	 61
Toma de muestras.....	61
1. <u>Variables objeto de estudio.....</u>	61
a. <u>Físico-químicas.....</u>	61
b. <u>Nutrientes.....</u>	62
c. <u>Metales traza.....</u>	63
2. <u>Metodología de muestreo.....</u>	63
Protocolos de limpieza.....	69
1. <u>Tubos para conducciones.....</u>	69
2. <u>Cartuchos de filtración.....</u>	70
3. <u>Botes para el análisis de sólidos en suspensión.....</u>	71
4. <u>Botes para el análisis de nutrientes.....</u>	71
5. <u>Botes para el análisis de metales pesados mayoritarios.....</u>	72
6. <u>Botes para el análisis de metales pesados minoritarios.....</u>	73
7. <u>Material de plástico.....</u>	74
8. <u>Material de teflón.....</u>	74
Validación de los protocolos de limpieza.....	76
Metodología analítica.....	77
1. <u>Variables físico-químicas.....</u>	78
2. <u>Sólidos en suspensión.....</u>	78

3. <u>Nutrientes</u>	pág. 78
a. <u>Nitritos</u>	79
b. <u>Nitratos</u>	79
c. <u>Fosfatos</u>	81
d. <u>Amonio</u>	81
e. <u>Influencia de la salinidad en la determinación de nutrientes</u>	81
4. <u>Metales</u>	83
a. <u>Metales mayoritarios</u>	84
<i>Manganeso</i>	85
<i>Cobre</i>	95
b. <u>Metales minoritarios</u>	100
<i>Influencia de la zona de preparación de muestras</i>	101
<i>Influencia de la matriz de la muestra</i>	103
<u>CAPÍTULO III. CARACTERIZACIÓN DEL RÍO GUADALQUIVIR</u>	107
<u>DESCRIPCIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO</u>	108
Antecedentes.....	111
<u>ESTABLECIMIENTO DE LAS ESTACIONES Y FRECUENCIA DE MUESTREO</u>	117
Descripción de las estaciones de muestreo.....	123
Descripción de las tomas de muestra.....	131
<u>RESULTADOS</u>	133
Variables físico-químicas.....	133
1. <u>Temperatura</u>	133
2. <u>Conductividad</u>	135

3. <u>pH</u>	pág. 138
4. <u>Oxígeno disuelto</u>	142
5. <u>Sólidos en suspensión</u>	146
Nutrientes	152
1. <u>Nitratos</u>	152
2. <u>Amonio</u>	160
3. <u>Nitritos</u>	166
4. <u>Fosfatos</u>	171
Metales mayoritarios	176
1. <u>Cobre</u>	176
2. <u>Manganeso</u>	182
Metales minoritarios	187
1. <u>Cobalto</u>	187
2. <u>Níquel</u>	192
3. <u>Plomo</u>	196
4. <u>Zinc</u>	202
5. <u>Cadmio</u>	207
<u>ESTUDIO ESTADISTICO</u>	212
Preparación de la matriz de datos.....	213
Análisis de componentes principales.....	217
1. <u>Rotación propia</u>	219
2. <u>Rotación Varimax</u>	226
Análisis Cluster	229
1. <u>Formación de conglomerados para las estaciones de muestreo</u>	232
2. <u>Formación de conglomerados para las variables</u>	234

	pág.
<u>CAPÍTULO IV. DESARROLLO DE NUEVA METODOLOGÍA PARA ANÁLISIS DE METALES EN AGUA DE MAR</u>	239
<u>MEMBRANAS LÍQUIDAS: FUNDAMENTOS Y APLICACIONES</u>	240
Tipos de membranas líquidas.....	242
Variables que determinan el transporte a través de una membrana líquida.....	247
Aplicaciones de las membranas líquidas.....	250
<u>DESARROLLO EXPERIMENTAL</u>	252
Descripción del sistema.....	253
Coeficiente de permeabilidad.....	256
Optimización del método.....	257
1. <u>Optimización univariante</u>	258
<u>Acidez de la disolución cargada</u>	259
<u>Concentración de la disolución reguladora</u>	260
<u>Acidez de la disolución receptora</u>	262
<u>Concentración de DEHPA en la membrana</u>	264
<u>Velocidad de agitación</u>	265
<u>Porcentaje de extracción</u>	266
<u>Aplicación del sistema de membranas líquidas a muestras reales</u>	268
2. <u>Optimización multivariante: Simplex</u>	269
<u>Optimización química de un sistema de membranas líquidas por el método simplex</u>	273
<u>Optimización hidrodinámica del sistema</u>	275
<u>Porcentaje de extracción</u>	276
<u>Aplicación del sistema de membranas líquidas a muestras reales</u>	278

Análisis multielemental	pág. 279
1. <u>Zinc</u>	280
2. <u>Plomo</u>	282
3. <u>Cadmio</u>	284
4. <u>Aluminio</u>	286
5. <u>Manganeso</u>	287
6. <u>Níquel</u>	289
 <u>CONCLUSIONES</u>	 293
 <u>ANEXOS</u>	 297
 <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	 333

OBJETIVOS

El objetivo general de este trabajo es realizar la caracterización de las aguas del río Guadalquivir estableciendo la relación de las variables medidas con los usos del suelo en sus márgenes, aplicando para ello métodos de ultralimpieza durante el muestreo, tratamiento y análisis de las muestras así como desarrollando nuevas metodologías que permitan el análisis de elementos ultra-traza en muestras salinas.

Para llevar a cabo el objetivo propuesto se planteó el trabajo de forma que se cumplieran los siguientes objetivos específicos:

- Implantación de técnicas de ultralimpieza en los laboratorios del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Cádiz durante la preparación del material, toma de muestras y análisis de las mismas.
- Desarrollo de metodología analítica que permitiera la determinación de metales pesados en aguas salinas para niveles de concentración inferiores a $1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.
- Desarrollo de métodos de preconcentración de metales en agua de mar basados en el uso de membranas líquidas.
- Caracterización de las aguas del río Guadalquivir mediante el análisis de elementos traza y nutrientes.
- Identificar las entradas y salidas que repercuten en las concentraciones de metales y nutrientes existentes en las aguas del río Guadalquivir.

(página en blanco intencionadamente)

CAPÍTULO I.

INTRODUCCIÓN

Desde la antigüedad el hombre ha establecido sus poblaciones en zonas próximas a los cursos de agua, no sólo porque ésta es imprescindible para la vida, sino porque es útil para muchas de las actividades que desarrolla. Debido a ello, los ríos han sido con frecuencia los receptores de muchos de los residuos generados por el hombre, gracias a su conocida capacidad de autodepuración. Con el paso del tiempo, esta situación ha ido aumentando en importancia hasta llegar a la actualidad. Así hoy llegan a los ríos efluentes industriales y urbanos que pueden modificar en gran medida las características naturales de sus aguas. En muchos casos, el desarrollo industrial y la introducción de técnicas intensivas en la agricultura, así como el crecimiento demográfico de un gran número de poblaciones, ha hecho que la cantidad de contaminantes que llegan a los ríos, y a través de ellos al mar, sea tan grande que puede llegar a saturar su capacidad autodepurativa. Si se tiene en cuenta que esta agua receptora de residuos es el medio de vida de numerosas especies animales y vegetales y puede ser utilizada para el abastecimiento de la población o en otras actividades como por ejemplo cultivos piscícolas, es necesario cuidar que su calidad no descienda hasta niveles que harían imposible su utilización.

Para realizar una buena gestión de este recurso tan necesario hay que conocer detalladamente qué actividades se desarrollan en las proximidades de los cursos de aguas y de qué modo pueden afectarles. Por otro lado debe conocerse la naturaleza de las cuencas, ya que dependiendo de ella las características naturales del agua van a ser diferentes y por tanto su comportamiento ante las agresiones externas. Esta necesidad de

conocer y diferenciar las fuentes naturales y antropogénicas de los distintos elementos que encontramos en el agua ha hecho que en el último siglo se hayan realizado numerosos estudios enfocados a la caracterización de los cursos de agua y al establecimiento de una adecuada gestión de los ríos y zonas costeras compatible con un desarrollo sostenible.

Para entender el modo en que las actividades antropogénicas afectan a las aguas superficiales, así como la extensión de su influencia, es necesario identificar las fuentes de contaminación y los principales elementos que aporta cada una de ellas. En este sentido, existen modelos de estimación que pueden ser de gran utilidad. Un ejemplo de ellos es el modelo Moneris aplicado, entre otros, por Behrendt y col. (2002) para estimar las descargas de nutrientes a partir de distintas fuentes en más de 200 ríos alemanes durante dos periodos de tiempo, de 1983 a 1987 y entre 1993 y 1997. Este modelo considera como vías de entrada de nutrientes distintas fuentes difusas como la deposición atmosférica, las aguas subterráneas, aguas de drenaje, las áreas urbanas pavimentadas, la erosión y las escorrentías superficiales, y como descargas puntuales las procedentes de las estaciones de tratamiento de aguas residuales urbanas y las descargas industriales. En muchas ocasiones es imposible establecer la influencia que cada una de estas fuentes ejerce sobre un determinado curso de agua, aunque existen determinados parámetros físico-químicos que se han vinculado principalmente a un origen determinado. Este hecho hace que cada vez con mayor fuerza se imponga la caracterización de los usos de la tierra en las márgenes de los ríos para relacionarlos con las concentraciones de distintos parámetros que determinan la calidad de sus aguas.

Así pues, será necesario conocer los procesos físicos, químicos y biológicos que pueden experimentar los elementos introducidos en el agua a lo largo del tiempo. En este contexto, uno de los aspectos más particulares lo encontramos en los estuarios, ya que el cambio de salinidad que ocurre en esta zona, que en ocasiones puede ser muy rápido, condiciona un gran número de reacciones que pueden modificar la forma en que un determinado elemento accede a las aguas costeras.

Resulta evidente que el estudio de los ríos conlleva un importante trabajo de investigación manejando un gran número de variables. Por esta razón, los investigadores buscan elementos que puedan indicar inequívocamente la fuente que los origina. Estos elementos se conocen como trazadores, ya que su concentración en las

aguas permite trazar la influencia de una determinada actividad humana sobre el medio. Tradicionalmente se han utilizado las relaciones isotópicas de algunos elementos como trazadores de la contaminación humana. Pero, como se explicará detalladamente en un apartado posterior, actualmente se está estudiando la utilización de trazadores no convencionales, como los nutrientes o metales traza, como indicadores de la calidad de las aguas, así como para la identificación del origen y transporte de los aportes naturales y antropogénicos. De este modo la concentración de nutrientes, carbono orgánico y metales, así como su relación con las características físico-químicas del agua (salinidad, pH, etc.), son parámetros frecuentes en la descripción de la calidad de las aguas.

FACTORES NATURALES QUE AFECTAN A LA COMPOSICIÓN DE LAS AGUAS

Para entender cómo el hombre modifica las características de las aguas hay que determinar cuáles son los factores naturales que definen dichas características. Si tenemos en cuenta el ciclo hidrológico, el agua interacciona con gases, líquidos y sólidos presentes en la naturaleza. Para Bricker y Jones (1995), existen dos factores físicos que son de particular importancia en la composición de las aguas naturales:

- el tiempo de residencia: cuanto mayor sea el tiempo que el agua permanece en contacto con un determinado material tendrá más oportunidades de interaccionar con dicho material.
- los caminos o rutas que sigue el agua en el sistema: estos caminos determinan las características de los materiales con los que el agua interactúa.

Así, la composición de las aguas naturales está dominada principalmente por la atmósfera y las rocas que forman la corteza terrestre. A pesar de ello no hay que olvidar el papel que realiza la biota que interviene física y químicamente en multitud de reacciones que tienen lugar en el medio acuático. Así pues, dentro de los factores naturales que afectan a la composición de las aguas se podría hablar de tres tipos de factores: atmosféricos, geológicos y biológicos.

a. Factores atmosféricos

A través de la atmósfera se produce el transporte de materiales de unas zonas a otras siendo posteriormente depositados, ya sea por vía seca o húmeda. Por ejemplo, Scheren y col. (2004) presentan datos del aporte de nitrógeno y fósforo por estas vías en el lago Ebrié. Durante el año 2000 estimaron aportes de nitrógeno al lago de hasta 1742 toneladas anuales a través de la deposición húmeda y de 3483 por vía seca, mientras que el aporte de fósforo fue de hasta 130 y 260 toneladas anuales respectivamente.

En cuanto a la lluvia y otras formas de deposición húmeda, su composición depende en gran medida de las características del aire. Así en zonas industrializadas poseen un alto contenido de sulfatos, nitratos y un pH alto debido a la contribución de los combustibles fósiles. Además las aguas de lluvia poseen un importante papel en la erosión de los compuestos sólidos, por lo que van a estar fuertemente ligadas a los factores geológicos.

b. Factores geológicos

Las reacciones de erosión entre las aguas naturales y los minerales que forman las rocas de la corteza son las principales responsables de la composición de las aguas naturales no contaminadas. En este sentido, Neal y col. (2000a) señalan que en el río Pang (Inglaterra) la mayor fuente natural de fósforo es la meteorización de las apatitas y Quinn y Stroud (2002) encuentran que la concentración de fósforo presente en distintos cursos de agua de Nueva Zelanda está relacionada con las características geológicas de la cuenca. En el valle Leon Guanajuato (Méjico) se ha detectado cromo en las aguas subterráneas procedente de las unidades ultramáficas que forman la Sierra de Guanajuato, debido a la liberación de este metal ocasionada por la tectónica pasada y presente y sucesos hidrotermales (Robles-Camacho y Armienta, 2000).

Como se ha mencionado anteriormente en una gran parte de los casos la atmósfera interacciona igualmente con las rocas para modificar las características de las aguas. Así, en la época de lluvias los suelos son lavados por ellas de modo que arrastran una multitud de sólidos y elementos disueltos que pueden llegar a los ríos y por consiguiente al mar. Por mencionar un ejemplo, Moreau y col. (1998) han descrito que la lluvia es el factor que más influye en la variabilidad de las concentraciones de nitratos

en el río Vilaine (Francia), ya que este nutriente se asocia con lixiviados del suelo durante los inviernos lluviosos.

c. Factores biológicos

Muchos organismos acuáticos tienen la capacidad de modificar físicamente el suelo en el que viven. Además pueden tomar ciertos compuestos químicos del medio y excretar otros distintos, modificando de este modo la composición química de las aguas al producir cambios en el pH, potencial redox, etc.

En este sentido, Balls (1994) describe claras diferencias estacionales en las concentraciones de nitratos en los estuarios de los ríos Tweed y Dee (Escocia) atribuidas a la actividad biológica, presentando un máximo durante el invierno, cuando dicha actividad es mínima.

FACTORES ANTROPOGÉNICOS QUE AFECTAN A LA COMPOSICIÓN DE LAS AGUAS

Para entender el modo en que las actividades humanas afectan a las aguas superficiales y subterráneas se debe tener en cuenta que los aportes antropogénicos pueden tener un origen muy diverso. Por un lado están las denominadas fuentes puntuales, como la descarga de efluentes de aguas residuales tratadas o de los efluentes procedentes de actividades industriales y cuyo origen está geográficamente bien delimitado, por lo que resulta más sencillo realizar un seguimiento de los cambios que producen en el medio receptor. Por otro lado existen las fuentes no puntuales o difusas, debidas principalmente a las escorrentías procedentes de zonas urbanas y agrícolas, al aporte de aguas subterráneas contaminadas, a la deposición atmosférica o al uso recreativo de los cursos de aguas. Los efectos producidos por estos aportes no puntuales pueden abarcar una zona geográfica extensa no delimitada, por lo que son más difíciles de controlar. En la tabla I.1 se muestran algunas de estas fuentes que influyen en la calidad de las aguas, así como los efectos que pueden producir y los contaminantes más característicos de cada una de ellas (Robson y Neal, 1997a).

Tabla I. 1. Fuentes de posible contaminación de las aguas de los ríos.

FUENTES PUNTUALES		FUENTES DIFUSAS	
<i>Origen</i>	<i>Contaminante</i>	<i>Origen</i>	<i>Contaminante</i>
Aguas residuales	Nutrientes, detergentes, D.B.O., sólidos en suspensión, cloruro, metales y orgánicos.	Agrícola	Nitratos (fertilizantes)
Industrial	D.B.O., sólidos en suspensión		Microorganismos (pesticidas)
	Orgánicos, metales, pH extremos (Químicas/Petroquímicas)		Sólidos en suspensión y sílice (erosión)
	Nitratos, amonio, fosfatos, bajadas de pH (Procesadoras de comida)		D.B.O., amonio, fosfatos, sólidos en suspensión (escorrentías)
	Pesticidas, detergentes, sulfito (Textiles)	Geológico	Calcio, magnesio, silicio (Meteorológico)
	Metales (Metalúrgicas)		Metales, sedimentos (Minería histórica)
Varios (Industria ligera)			
Minas/vertederos	Orgánicos, metales, acidez, sólidos en suspensión		

Una vez introducidas de este modo las principales fuentes de contaminación, se pasa a desarrollar con detalle los efectos causados por cada una de ellas, así como las diferentes políticas de protección que actualmente se desarrollan para evitarlas. Se han considerado principalmente aquellos aspectos relativos a actividades agrícolas y a residuos urbanos e industriales por la importancia y extensión que estas actividades presentan en la mayoría de los casos.

Actividades agrícolas

Uno de los principales efectos que la agricultura ejerce sobre la calidad de los ríos se debe a la gran cantidad de sólidos que aporta a los cursos fluviales como consecuencia de la erosión del suelo que ocurre tras los periodos de lluvia. Algunos estudios realizados en los Estados Unidos indican que la cantidad de sólidos procedentes de las tierras agrícolas que llegan a los ríos supone más de 10 veces el flujo de sólidos procedentes de escorrentías urbanas y de aguas residuales no tratadas, y unas 20 veces el derivado de tierras forestales. Además, aunque la pérdida de suelo de estas

áreas descendió un 20% entre 1982 y 1992, como resultado de la aplicación de prácticas agrícolas más ecológicas, todavía sigue siendo muy elevada (Laws, 2000).

Los contaminantes introducidos en los ríos a partir de las actividades agrícolas proceden del uso de fertilizantes y pesticidas que con las nuevas prácticas intensivas han sido utilizados de forma masiva en un gran número de países. El aumento en el uso de fertilizantes con alto contenido en nitrógeno ha conducido a una mayor concentración de nitratos tanto en aguas superficiales como subterráneas, ya que la gran solubilidad de este compuesto implica que sea fácilmente liberado del suelo y arrastrado hasta los ríos por las aguas de escorrentía. Aunque el fósforo es también muy utilizado en los fertilizantes agrícolas, generalmente es inmovilizado en forma de compuestos inorgánicos, de modo que la mayor parte del fósforo que llega a los ríos lo hace en forma de partículas y sedimentos en suspensión.

Son numerosos los trabajos que abordan las implicaciones que para los cauces fluviales tiene la agricultura, pudiéndose encontrar ejemplos llevados a cabo en los cinco continentes. En los siguientes párrafos se sintetizan algunos de los que pueden ser considerados más significativos.

En el estuario del río Gironda (Francia) la actividad agrícola constituye la principal fuente de contaminación. Michel y col. (2000) destacan el aumento de un 60% observado en la concentración de nitrógeno en las aguas de dicho estuario desde el período 1974-1986 hasta la actualidad, debido a los cambios producidos en las actividades agrícolas. En la misma línea, Moreau y col. (1998) se refieren al aumento en las concentraciones de nitratos medidas en el río Vilaine (Francia), con un 78% de su cuenca destinada a la agricultura, desde un valor de $1,5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de nitrógeno nítrico en el año 1971 hasta alcanzar una concentración de $8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en el año 1998. Balls (1994) también relaciona las altas concentraciones de nitratos en el río Ythan (Gran Bretaña) con la intensa agricultura de la zona, y Arienzo y col. (2001) encuentran en el río Sarno (Italia) concentraciones de nitratos próximas a los niveles máximos permitidos por la normativa de calidad de aguas, coincidiendo los mayores valores con el pico en la producción del tomate en la zona.

En Inglaterra, las áreas cultivadas reciben actualmente una media de 125, 14 y $35 \text{ Kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de nitrógeno, fósforo y potasio. La continua aplicación de fertilizantes y estiércol hace que estos elementos se acumulen en los suelos y sean posteriormente

arrastrados por las aguas de escorrentía, siendo transportado el fósforo principalmente en forma particulada y el nitrógeno en forma disuelta, tal y como se ha comentado anteriormente. Así, en estas aguas se detectan concentraciones de $0,45 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de fosfato total disuelto y de $2,37 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de nitrógeno total, siendo los nitratos la forma más abundante (41%) (Withers y Lord, 2002).

Herath (1998) presenta un exhaustivo estudio sobre el uso de los fertilizantes en la agricultura australiana y sus implicaciones en el medio ambiente. Este autor señala que el aporte anual de fosfatos a cultivos de trigo llega a ser del orden de $115\text{-}140 \text{ Kg}\cdot\text{ha}^{-1}$, siendo en el caso de los cultivos de algodón y arroz alrededor de $200 \text{ Kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de nitrógeno. Todo esto sin olvidar que los insecticidas organoclorados aparecen frecuentemente en cursos de agua que bañan zonas agrícolas. Partiendo de estos hechos, propone una serie de estrategias que pueden ser útiles para el mantenimiento de una agricultura compatible con la conservación del medio. Estas estrategias contemplan el desarrollo de una gestión integrada de insectos y malas hierbas que reduzca o elimine el uso de los pesticidas, el cultivo orgánico y el uso de alternativas biotecnológicas.

Aunque España ocupa el tercer lugar dentro de los países más agrícolas de la Unión Europea, realiza también un menor uso de fertilizantes comerciales por hectárea cultivada, con un consumo medio durante el año 1997 de $67 \text{ Kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ frente a los $228,0 \text{ Kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ que, por ejemplo, consumían Bélgica y Luxemburgo. Sin embargo, el consumo ha ido en aumento a lo largo de la pasada década, especialmente en el caso del nitrógeno. En 1992 en España se consumían $56,9 \text{ Kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de N frente a los $78,1 \text{ Kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ que se utilizaron durante el año 2000. En la misma línea el uso de fósforo aumentó desde $28,2$ a $34,8 \text{ Kg}\cdot\text{ha}^{-1}$, y el de potasio de $20,6$ a $29,0 \text{ Kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2002).

Ya en los años 70 comienza la preocupación de la Unión Europea por los niveles de nitrógeno en las aguas, publicando en el 1975 una directiva que fija la concentración permitida en el agua de bebida en $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de nitratos, siendo ratificado este nivel en la posterior directiva de 1980. Pero la preocupación desde el punto de vista ambiental no surge hasta algunos años después, en 1991, con la publicación de la directiva del Consejo de las Comunidades Europeas 91/676/CEE, de 12 de diciembre de 1991, relativa a la protección de las aguas contra la contaminación producida por nitratos utilizados en la agricultura (D.O.U.E., 1991)). Para alcanzar su objetivo de reducir y

prevenir la contaminación producida por el uso de nitratos se obliga a los Estados miembros a que identifiquen las aguas afectadas por dicho tipo de contaminación o aquellas que podrían verse afectadas en un futuro si no se tomara ninguna medida. El criterio para identificar dichas aguas se basa en una concentración de nitratos por encima de los $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, o la existencia de eutrofización (Goodchild, 1998). Para el cumplimiento de esta normativa España publica en 1996 el Real Decreto 261/1996, de 16 de febrero, sobre protección de las aguas contra la contaminación producida por los nitratos procedentes de fuentes agrarias, en el que se fijan las directrices básicas para establecer las aguas afectadas por la contaminación por nitratos, así como los códigos de buenas prácticas agrarias y los programas de actuación que las Comunidades Autónomas deben establecer. Entre estas directrices figuran las cantidades de estiércol a aplicar, teniendo en cuenta las características del terreno y las épocas más adecuadas para aplicarlos (B.O.E., 1996a). Siguiendo estas directrices la Comunidad Autónoma de Andalucía publica el Decreto 261/1998, de 15 de diciembre, por el que se designan las zonas vulnerables a la contaminación por nitratos procedentes de fuentes agrarias de origen agrícola (B.O.J.A., 1999). Estas zonas se agrupan en seis, el valle del Guadalquivir, diferenciando una zona en Sevilla y otra que abarca Córdoba y Jaén, el detrítico de Antequera, la vega de Granada y el litoral Atlántico y Mediterráneo. Para cada una de estas zonas se establecerá un Programa de Actuación determinado y un Código de Buenas Prácticas Agrarias. Estos programas fueron aprobados por la Junta de Andalucía en la Orden de 27 de Junio de 2001, conjunta de las Consejerías de Medio Ambiente y de Agricultura y Pesca, por la que se aprueba el programa de actuación aplicable en las zonas vulnerables a la contaminación por nitratos procedentes de fuentes agrarias designadas en Andalucía, donde se establecen los cultivos implicados en el programa para cada una de las zonas definidas en el Decreto 261/1998 (B.O.J.A., 2001). Así mismo, según el cultivo se dan las limitaciones a la aportación de fertilizantes nitrogenados y los periodos y formas de aplicación así como la aportación máxima de nitrógeno a los cultivos, la aplicación de las técnicas de riego y el control de los residuos producidos por las actividades ganaderas que se realizan en la zona.

Aunque en mucha menor cantidad que los compuestos nitrogenados y fosforados, pesticidas, etc., la agricultura también puede producir alteraciones en las concentraciones de metales pesados en las aguas. Así, por ejemplo los fertilizantes

fosfatados suelen contener también cantidades significativas de cadmio (alrededor de 5-100 mg·Kg⁻¹), lo que puede ocasionar un aumento de este metal en los suelos y posteriormente en las aguas superficiales. Son diversos los trabajos que describen la acumulación de diferentes metales pesados como consecuencia de las actividades agrícolas (Xue y col., 2000; Montluçon y Sañudo-Wilhelmy, 2001). Estos trabajos pueden encontrarse también en nuestro país, donde Linde y col. (1995) han relacionado los altos contenidos de metales (Cu, Pb, Cd) en aguas y sedimentos del río Piles (Asturias) con las actividades agrícolas existentes en la zona.

Estaciones depuradoras de aguas residuales

La naturaleza de los efluentes producidos en una estación depuradora de aguas residuales depende de la cantidad y calidad de las aguas que llegan a la planta y del tipo de tratamiento al que son sometidas. Estos tratamientos pueden clasificarse en primario, secundario y terciario. El tratamiento primario es un tratamiento físico en el que se eliminan las partículas suspendidas que trae el agua, bien por filtración para partículas grandes o mediante lagunas de decantación para partículas menores. En la depuración secundaria se utilizan por lo general tratamientos biológicos que disminuyen la carga de materia orgánica. Para la eliminación de nutrientes es necesario generalmente un tratamiento terciario que no suele ser de uso habitual, en la mayoría de los casos debido al alto coste que supone.

En Europa el tratamiento secundario debe ser el adecuado para conseguir en los efluentes los niveles marcados por la directiva europea 91/271/CEE, de 21 de Mayo de 1991, sobre el tratamiento de las aguas residuales urbanas, dependiendo de si la zona es considerada sensible o menos sensible, los cuales se recogen en la tabla I.2. Como zona menos sensible se entiende aquella donde el vertido de aguas residuales no tenga efectos negativos sobre el medio ambiente debido a la morfología, hidrología o condiciones hidráulicas específicas existentes en esa zona (D.O.C.E., 1991).

En España el Real Decreto 509/1996, de 15 de marzo, de desarrollo del Real Decreto-Ley 11/1995, de 28 de diciembre, por el que se establecen las normas aplicables al tratamiento de las aguas residuales urbanas, dispone los mismos requisitos de los efluentes de aguas residuales tratadas que la directiva europea, siendo modificado posteriormente por el Real Decreto 2116/1998 (B.O.E., 1996b; B.O.E., 1998).

Tabla I.2. Requisitos para los vertidos procedentes de instalaciones de tratamiento de aguas residuales urbanas (valores referidos a medias anuales).

Parámetros	ZONAS MENOS SENSIBLES		ZONAS SENSIBLES	
	Concentración	Porcentaje mínimo de reducción	Concentración	Porcentaje mínimo de reducción
<i>Demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅ a 20°) sin nitrificación</i>	25 mg·L ⁻¹ de O ₂	70-90	-	-
<i>Demanda química de oxígeno</i>	125 mg·L ⁻¹ de O ₂	75	-	-
<i>Total de sólidos en suspensión</i>	35 mg·L ⁻¹ (más de 10.000 hab-eq) 60 mg·L ⁻¹ (de 2.000 a 10.000 hab-eq)	90 (más de 10.000 hab-eq) 70 (de 2.000 a 10.000 hab-eq)	-	-
<i>Nitrógeno total</i>	-	-	10 mg·L ⁻¹ de N (más de 100.000 hab-eq) 15 mg·L ⁻¹ de N (de 10.000 a 100.000 hab-eq)	70-80
<i>Fósforo total</i>	-	-	1 mg·L ⁻¹ de P (más de 100.000 hab-eq) 2 mg·L ⁻¹ de P (de 10.000 a 100.000 hab-eq)	80

Hab-eq: habitante equivalente

La descarga de aguas residuales, estén o no tratadas, puede generar una gran cantidad de problemas de contaminación en los cursos de agua a las que son vertidas. Las altas concentraciones de sólidos en suspensión y DBO, junto con elevados contenidos en nitrógeno y fósforo, pueden generar problemas de eutrofización. Los tratamientos convencionales de aguas residuales retiran la mayoría de los sólidos en suspensión, DBO y organismos patógenos, pero menos de la mitad del nitrógeno y fósforo (Laws, 2000). De modo que en la mayoría de los casos las aguas residuales tratadas aún mantienen niveles altos de nutrientes que pueden afectar a la calidad de las aguas donde son vertidas.

Como ejemplo podemos mencionar el trabajo realizado por Balls y col. (1996) en el estuario del Forth (Inglaterra), donde encuentran entradas de amonio a partir de fuentes de aguas residuales de 4 a 8 veces mayores que las asociadas a fuentes industriales y fluviales. Asimismo indican aumentos en la concentración de oxígeno

disuelto como consecuencia de mejoras en el tratamiento de las aguas residuales que son vertidas al estuario y al cierre de algunas industrias.

Igualmente, Neal y col. (2000b) relacionan el aumento en las concentraciones de amonio (de 50 a 150 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) y fósforo (de 25 a 450 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de fósforo soluble reactivo) a lo largo del río Kennet (Inglaterra) con la entrada de aguas residuales. Esto se ve confirmado por la disminución experimentada para los valores de fósforo una vez que la planta de tratamiento pone en marcha un nuevo sistema para la retirada de este elemento de sus efluentes. Por otro lado, Muller y col. (1994) observan en el estuario del Clyde (Inglaterra) una mayor concentración de amonio en las aguas durante el verano, cuando predominan las entradas de aguas residuales, relacionando estos valores con los encontrados para el fósforo. Según Moreau y col. (1998), el mayor aumento de fósforo total en el río Vilaine se produce al atravesar la ciudad de Vitré (Francia), debido principalmente a las tres estaciones de tratamiento de aguas residuales allí situadas. En el río Pardo (Brasil) los valores de fosfatos totales fueron menores en zonas que no recibían descargas urbanas directas, relacionando las concentraciones más altas con fuentes puntuales derivadas de plantas de tratamiento de aguas residuales y coincidiendo con los máximos de carbono orgánico disuelto (COD). Aunque este hecho demuestra la influencia que el hombre ejerce en la calidad de las aguas del río a través de las descargas municipales de aguas residuales, el tratamiento era suficientemente eficiente para permitir el uso del agua del río para el abastecimiento después de un tratamiento convencional (Márquez da Silva y Bueno Sacomani, 2001).

Descargas industriales

El principal problema de la contaminación de origen industrial es la gran variabilidad en las características de los efluentes dependiendo del tipo de industria que los genere. Por lo general, en los países industrializados las entradas de contaminantes directamente al río desde este tipo de fuentes son reducidas e incontroladas, ya que la mayoría de las industrias tratan primero sus residuos para después incorporarlos a la red de alcantarillado y de ésta a las estaciones de tratamiento de aguas residuales.

En China, en 1996, las descargas de residuos industriales a las aguas costeras fueron de $619\cdot 10^6$ T, de las cuales el 46% procedían de industrias químicas y petrolíferas, 19% de industrias textiles y peleteras, y 15% de industrias energéticas

(Zhang, 2002). En el Reino Unido las entradas debidas a la actividad industrial representan menos del 10% del total (Cooper y col., 2002). Sin embargo, no son despreciables los efectos locales causados, como por ejemplo el descrito por Robson y Neal (1997a), quienes relacionan los niveles de cromo, lindano, diendril y surfactantes aniónicos encontrados en los ríos Aire y Calden (Inglaterra) con las industrias textiles de la zona. Estos autores afirman además que los contenidos de zinc, níquel, cobre y boro en el río Thame se deben a los vertidos procedentes de industrias de procesamiento de metales. También en Inglaterra, en las aguas estuáricas de Essex y Suffolk se han evaluado las distintas fuentes de cobre y zinc (Matthiessen y col., 1999). Aunque las más importantes fueron las procedentes del tráfico marítimo y las descargas de aguas residuales, hay que señalar que los datos sobre los efluentes industriales no eran completos. Sólo se obtuvieron datos de tres de las siete industrias de la zona. Así se identifica a la industria química Exchem como responsable del vertido de 3,7 y 24,6 $\text{Kg}\cdot\text{año}^{-1}$ de cobre y zinc respectivamente en la costa de Essex, y a la cercana refinería Carless como origen de la entrada al estuario del Stour de 12,1 y 11,24 Kg anuales de cobre y zinc y sólo el puerto de Tichmarsh libera respectivamente unos 412 y 122 $\text{Kg}\cdot\text{año}^{-1}$. Finalmente, la simple operación de limpieza de tanques en el puerto de Felixstowe se relaciona con el vertido al mar de 2,97 Kg de cobre y 19,39 Kg de zinc anuales.

En Francia, Grousset y col. (1999) realizan un interesante estudio de un testigo de sedimentos del río Garona que les permite establecer cómo los cambios en la actividad industrial de la zona a lo largo de los últimos 70 años han afectado al medio. Así, identifican cinco capas diferentes de sedimentos, relacionando los aumentos en cadmio y zinc con una mayor actividad minera y con el lixiviado de los residuos almacenados. Coincidiendo con la época en que estos residuos son cubiertos aparece una disminución en las concentraciones de estos metales al disminuir los aportes procedentes del lixiviado por aguas de lluvia. Por otro lado, el funcionamiento de empresas curtidoras de pieles produce un aumento en las concentraciones de cromo, mientras que el aumento en el contenido de vanadio, y en parte también en el de cromo, se relaciona con fábricas que realizan recubrimientos de superficies metálicas de herramientas mediante electrólisis.

La industria del plástico ha producido en la cuenca del río Ganga (India) un aumento en las concentraciones de los compuestos organoestánicos (Ansari y col. (1998), y en la cuenca del río Kano (Nigeria) las descargas de efluentes derivados de la industria del curtido de pieles producen un aumento en los sólidos en suspensión así como concentraciones mayores de sulfatos y cromo en las aguas del río Salanta (Nigeria) (Bichi y Anyata, 1999). Del mismo modo, en Behala (Calcuta) se ha relacionado la contaminación de arsénico de las aguas subterráneas con las descargas de efluentes industriales procedentes de la fabricación del insecticida Paris-Green ($\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_{2,3}\text{Cu}(\text{AsO}_2)_2$) en una fábrica local (Chatterjee y col., 1993).

Por otro lado, los altos niveles de cadmio, cobre, níquel, zinc y fosfatos que Cotté-Krieff y col. (2000) hallaron en el estuario del Tajo (Portugal) se relacionaban con el complejo industrial Bareirro Quimigal (Lisboa). Este complejo incluye una planta de tostado de pirita que ya había sido identificada previamente como una de las fuentes principales de arsénico a la costa (Andreae y col., 1983), una fundición (Siderurgia Nacional) y una factoría de mineral de fosfato. La descarga de esta factoría resultó en un aumento local del nivel de ^{210}Pb y ^{210}Po , y de otros metales como cadmio, en el sedimento y materia particulada en el estuario (Carvalho, 1995). Además, las mayores concentraciones de mercurio en aguas, sedimentos y materia en suspensión de esta zona también pueden deberse a los vertidos ocasionados por estas industrias (Figueres, 1985; Carvalho, 1995).

En Minas Gerais (Brasil), Jordao y col. (2002) relacionan las altas concentraciones de algunos metales en las aguas fluviales con la existencia de industrias de procesamiento de caolinita. Así, las concentraciones de aluminio en los puntos de vertido de las industrias llegan a ser hasta 3020 veces superiores a los estándares ambientales brasileños. También las concentraciones de zinc, hierro y níquel en estos puntos superan los estándares brasileños, aunque en menor medida que el aluminio.

En España también pueden encontrarse diversos ejemplos de contaminación de origen industrial. El estuario de los ríos Tinto y Odiel presenta una elevada contaminación de distintos elementos asociada no sólo a las actividades mineras de la zona. Las concentraciones de fosfatos en el río Tinto pueden relacionarse con la industria de fabricación de fertilizantes. Esta industria ocasiona la deposición de enormes capas de fosfoyesos, de 4-6 m de espesor y una extensión de más de 2 Km²,

que son lavadas por las aguas de lluvia ocasionando el arrastre de ácido fluorhídrico y fosfórico a las aguas del río.

En la misma zona, la entrada de un efluente procedente de la industria papelera con alto contenido orgánico favorece el consumo de oxígeno y disminuye aún más el pH en el río Tinto. Aún cuando esta disminución es pequeña, si tenemos en cuenta que las aguas del río son muy ácidas, se produce la disolución de oxihidróxidos de hierro de los sedimentos, liberando hierro y otros metales asociados como manganeso, aluminio, cobre, cadmio y zinc (Elbaz-Poulichet y col., 1999).

Por otro lado, en la torrentera de Brujas (Motril) se han detectado mayores concentraciones de zinc cuando se produce la descarga de los efluentes de una fábrica de papel, aunque este aporte no supone un aumento importante en la concentración de zinc en las aguas del mar Mediterráneo (Terrés-Martos y col., 2002). En esta misma zona Navarro y col. (1993) establecieron la relación entre los altos valores de mercurio en aguas y sedimentos con la actividad de la fábrica de papel, al encontrar una correlación negativa entre la distancia desde la fábrica hasta la estación de muestreo y la concentración de mercurio en las aguas y sedimentos.

En el río Ebro se han encontrado concentraciones elevadas de metales (Hg, Pb, Cd, Zn, Cu) en sedimentos de estaciones de muestreo próximas a una fábrica de papel, una fundición y una factoría donde se realizaban recubrimientos galvánicos (Ramos y col., 1999). Este último tipo de industria es responsable del aumento de las concentraciones de cromo en los sedimentos del estuario de Bilbao, una de las zonas más contaminadas de España (Cearreta y col., 2000). En esta misma zona, se observa un enriquecimiento de titanio y arsénico en los sedimentos causado por los efluentes de una planta de procesamiento de dióxido de titanio, pudiendo además apreciarse como estos elementos presentan una concentración más alta en los sedimentos más profundos, indicando la disminución de la entrada de estos elementos al cerrar la fábrica en 1986.

Aunque, como se ha podido observar, la contaminación de origen industrial es diversa, al ser una fuente puntual es más fácil de detectar su procedencia así como de corregir su impacto. Este hecho permite que los gobiernos puedan ejercer cierto control sobre los efluentes industriales, sancionando aquellas empresas que producen vertidos contaminantes por encima de los límites permitidos. Aún así, en los ejemplos expuestos anteriormente se puede observar que todavía existen numerosas empresas en todo el

mundo que generan un importante impacto en el medio acuático. Algunos de los episodios de contaminación acuática de origen industrial más importantes han sido ocasionados por la industria minera, que por sus características particulares se presenta a continuación.

Actividades mineras

La minería es una de las actividades industriales más peligrosas desde el punto de vista de la contaminación debido a la gran cantidad de residuos que se generan y a los elementos que los forman, estando principalmente compuestos de ácidos y metales fuertemente tóxicos para los organismos vivos. Además, aunque su origen suele estar localizado como una fuente puntual, el efecto de la contaminación asociada a este tipo de actividad puede extenderse lejos de dicha fuente. En este sentido Moore y Luoma (1990) clasifican en tres los tipos de contaminación generada por la extracción de metales a gran escala:

1. Residuos producidos durante la explotación, la molienda y fundición y que son depositados cerca de la fuente de origen.
2. Efectos producidos en suelos, atmósfera, ríos, aguas subterráneas, etc., como consecuencia del transporte de contaminantes generados en el lugar de explotación a través de corrientes de aguas o de la atmósfera.
3. Removilización de contaminantes a muchos kilómetros de distancia de la fuente.

En otro estudio posterior Farmer y Graham (1999) recogen varios casos de contaminación producidos por actividades mineras en distintas zonas del mundo. En el área minera metalífera del suroeste de Inglaterra, donde existen numerosas explotaciones mineras abandonadas, el cierre y la inundación, en enero de 1992, de la mina de estaño Whale Jean situada en Cornwall condujo a una mezcla fuertemente ácida de distintos metales (cobre, plomo, cadmio, estaño y arsénico) que se introdujo en los ríos Carnon y Fal. A pesar de la magnitud del accidente, que liberó unos 50000 m³ de agua contaminada, los efectos negativos sobre la biota del río no fueron significativos gracias a que se trata de un estuario bien estratificado, por lo que la pluma contaminante no llegó a afectar a la biota del fondo y al mantener las aguas

contaminadas en la columna de agua se contribuyó a su eliminación por dilución y dispersión (Younger, 2002).

En el Amazonas la técnica habitual utilizada para la extracción de oro era su amalgama con mercurio. Los efectos producidos por esta actividad fueron un aumento de turbidez y la mortandad de peces, al ser el mercurio liberado al medio acuático. Otra técnica alternativa a la amalgama con mercurio se basa en el uso de cianuro, el cual es también altamente tóxico. Aunque se han hecho numerosos intentos para que el cianuro permanezca en un circuito cerrado, generalmente se producen pérdidas hacia las aguas subterráneas y superficiales. En el caso de las superficiales, si son ácidas y están bien oxigenadas la descomposición de este elemento se realiza en poco tiempo, pero no así en las aguas subterráneas, donde puede permanecer durante largos periodos de tiempo.

La mina de cobre Mt Lyell en Queenstown (Tasmania) que fue cerrada en 1994 produjo más de 100 millones de toneladas de escoria de fundición, así como cantidades desconocidas de drenaje ácido que fueron descargadas a través de los ríos King y Queen ocasionando bajos pH, altos contenidos en materia particulada y niveles elevados de distintos metales, principalmente cobre (Featherstone y O'Grady, 1997).

En España las actividades mineras han sido identificadas en numerosas ocasiones como fuentes de metales al medio acuático, incluso una vez que estas actividades han cesado. Este es el caso de la mina abandonada de Troya (Guipúzcoa), que ocasionó la contaminación de las aguas subterráneas cuando se produjo su cierre debido a que estas aguas recuperaron el nivel piezométrico permitiendo que las aguas contaminadas de la mina se mezclaran con ellas (Iribar y col., 2000). Esto supuso un aumento en los sulfatos y el hierro disueltos, ocasionando la desaparición de la población de peces de la zona principalmente por los metales tóxicos disueltos y la por la precipitación de oxihidróxidos de hierro.

Por otro lado, las actividades mineras realizadas desde los tiempos de los romanos en los ríos Tinto y Odiel han ocasionado que en algunos lugares sus aguas posean un pH inferior a 3, con altos contenidos en metales pesados. Así pues, tal y como afirma Schell (1996) el río Tinto se encuentra contaminado por varios metales como consecuencia de las actividades mineras desarrolladas en sus proximidades. Esta zona presenta un buen ejemplo de cómo las actividades mineras pueden extender la contaminación que ocasionan a otros lugares. Nelson y Lamothe (1993) proponen que

las anomalías detectadas en los sedimentos y materia en suspensión en la plataforma interna del Golfo de Cádiz serían el resultado del intercambio producido entre los sedimentos de la plataforma y los metales procedentes del traslado a este lugar de los residuos de una planta de extracción de titanio, cobalto y cromo situada en el río Tinto. Aunque estos autores señalan que es difícil determinar el enriquecimiento natural y diferenciarlo de las entradas antropogénicas, ya que en el estuario del Tinto los metales pesados podrían proceder de la erosión natural de los depósitos de sulfatos que forman parte del Cinturón de Pirita Ibérico, o bien podrían proceder de las actividades mineras desarrolladas en estos depósitos o del procesamiento de arena negra importada que se realiza en zonas industriales del estuario del Tinto. A esto se añade la dificultad de distinguir inequívocamente entre los posibles mecanismos que rigen el enriquecimiento de metales pesados en la costa española.

En otra zona del Golfo de Cádiz, el estuario del Guadalquivir, se produjo en 1998 la rotura de una presa donde se almacenaban los residuos producidos por una empresa minera. Estos residuos alcanzaron al río Guadiamar, uno de los caños de la red de marismas del río Guadalquivir el cual también se vio afectado por el vertido. De los efectos producidos por dicho vertido así como de los estudios realizados en el río Guadalquivir se hablará con detalle en un apartado posterior.

ELEMENTOS TRAZADORES DE ACTIVIDADES ANTROPOGÉNICAS

Como se ha señalado anteriormente, para la realización de una buena gestión de los recursos acuáticos es necesario conocer cómo las actividades humanas afectan al medio. Se han mostrado las fuentes más importantes de contaminación antropogénica así como los contaminantes más habituales asociados a cada una de ellas. El hecho de que alguno de estos elementos pueda ser vinculado directamente con una determinada actividad humana los convierte en una herramienta de gran utilidad en los estudios ambientales. Esta utilidad se basa en que el conocimiento de la concentración de estos elementos en las aguas naturales puede indicar el efecto que el hombre está ejerciendo sobre los ecosistemas acuáticos.

Estos elementos que se utilizan para identificar los efectos que el hombre ejerce sobre el medio, así como su origen y extensión, se conocen como trazadores. Tradicionalmente se han utilizado como trazadores de actividades humanas las relaciones isotópicas de determinados elementos más que sus concentraciones totales, gracias al hecho de que dichas relaciones son diferentes en las aguas naturales y en las de origen antropogénico. Un ejemplo de este tipo de trazadores es el boro, el cual posee dos isótopos en la naturaleza con una abundancia relativa muy diferente (^{10}B con un 80% y ^{11}B con un 20%). Este elemento está presente en la composición de muchos de los detergentes utilizados por el hombre, y llega a las plantas de depuración con las aguas de origen doméstico, donde su eliminación es muy reducida, por lo que pasa a formar parte de sus efluentes. Basándose en esto y mediante los datos obtenidos de las relaciones isotópicas del boro en las aguas Barth (2000a) ha identificado ciertos vertidos de aguas residuales como fuentes de contaminación en aguas termales y minerales de Suiza. Este mismo autor utiliza el boro para identificar y diferenciar las fuentes humanas y antropogénicas de contaminación al observar la gran diferencia en las relaciones isotópicas que presentan las aguas subterráneas no contaminadas y las aguas procedentes de lixiviados de terrenos de cultivo (Barth, 2000b). Otros autores han utilizado este elemento y sus isótopos para trazar los efluentes residuales que entran en un acuífero de Israel (Eisenhut y col., 1996), las aguas de irrigación afectadas por el uso de fertilizantes en Minesota (Komor, 1997), la entrada de residuos sólidos urbanos en algunas zonas de Alemania (Eisenhut y Heumann, 1997) o el efecto de los depósitos de cenizas generados por una planta de combustión de carbón en Arizona (Davidson y Bassett, 1993).

Por otro lado, el estudio de la composición isotópica del plomo en las aguas fluviales que llegan a la Bahía de San Francisco ha permitido establecer la contaminación procedente de la combustión de las gasolinas con plomo, así como su persistencia en el medio una vez eliminado el uso de dichas gasolinas (Dunlap y col., 2000).

Las relaciones isotópicas de osmio, junto con la concentración de plata, también han servido como trazadores de contaminación antropogénica en los sedimentos marinos. Ravizza y Bothner (1996) observaron que los bajos valores de la relación $^{187}\text{O}/^{186}\text{O}$ unidos a una alta concentración del elemento en las aguas residuales de

Boston permiten utilizarlo como un sensible trazador de la influencia de las aguas residuales sobre el medio marino.

No obstante, no sólo las diferencias en las relaciones isotópicas de determinados elementos permiten identificar cuál es su origen. En la actualidad existen numerosos trabajos en los que se usan las concentraciones de nutrientes y elementos traza en las aguas como trazadores de los efectos que el hombre genera en el medio acuático. En este sentido Sañudo-Wilhelmy y Flegal (1992) propusieron el uso de la plata y sus relaciones con el plomo como nuevos trazadores del efecto de las aguas residuales sobre los medios costeros. Estos elementos permitieron identificar y trazar las descargas de aguas residuales en las costas de Santa Bárbara (Baja California).

Por otro lado, la determinación del contenido metálico (Cu, Zn, Cd) en los suelos agrícolas y forestales en la cuenca del río Kleina Aa ha permitido que Xue y col. (2000) identificaran el origen de la elevada carga metálica en dicho río. Así, el aumento en la concentración de estos metales en las aguas procede de los lixiviados del suelo producidos por las aguas de lluvia. Mientras que el cobre y el zinc se identifican como trazadores de la actividad agrícola originados por el uso de estiércol como abono, el cadmio es principalmente relacionado con la deposición atmosférica, ya que su concentración fue alta en ambos tipos de suelo.

Dassenakis y col. (1998) determinaron un aumento en el contenido de fósforo en las aguas del río Litheos (Grecia) coincidiendo con el vertido de la planta de tratamiento biológico de aguas residuales de la ciudad de Trikala. Estos mismos autores identifican el efecto de la agricultura mediante el aumento que se produce en la concentración de nitratos en el río, mientras que el uso urbano de la zona puede ser trazado mediante las concentraciones de amonio y nitritos.

Para Jain (2002) las fuentes no puntuales son más importantes que las puntuales en los ambientes rurales, y en la mayoría de los casos su origen es el resultado de las interacciones de los usos de la tierra con el sistema de transporte. Este autor propone una gestión de las cuencas que relacione la conservación a largo plazo del suelo y el agua con un apropiado uso de la tierra, por lo que considera de especial interés conocer cómo las diferentes actividades humanas repercuten en el medio desde el punto de vista de la contaminación. Así, divide el área de estudio, el río Ganga (India), en cuatro zonas según los usos de la tierra: agricultura (7,1%), hierba/matorrales (56,9%), bosque

(21,5%) y tierra improductiva (14,5%), y determina en sus aguas diferentes parámetros químicos entre los que destacan los compuestos nitrogenados y fosforados como trazadores de la actividad agrícola de la zona. La comparación de los datos en los puntos estudiados muestra la gran influencia que esta actividad ejerce en la contaminación de la zona, siendo despreciable el aporte debido a fuentes urbanas, industriales y atmosféricas. La importancia de esta fuente queda patente en la existencia de episodios de alta mortalidad de peces debido al aumento del nitrógeno y fósforo procedente del uso de fertilizantes en los campos de cultivo.

Hay que tener en cuenta que el uso de un determinado elemento como trazador va a depender de las características geológicas de la cuenca objeto de estudio. Lo ideal es utilizar como trazador un elemento que se encuentre en baja concentración de forma natural de modo que las variaciones en su concentración puedan atribuirse únicamente a las actividades antropogénicas. En este sentido, el trabajo de Quinn y Stroud (2002) permite entrever la posibilidad de usar el nitrógeno y el fósforo como trazadores de actividades ganaderas. Estos autores compararon concentraciones de una gran cantidad de parámetros entre cuencas adyacentes con varios usos de la tierra, observando un mayor aporte de nitrógeno y fósforo, de 2,5 a 7,7 veces más, desde tierras de pasto que en la zona con bosque autóctono, hallando valores intermedios en cuencas donde coexistían ambos usos. En la misma línea presentan Basnyat y col. (1999) una modelización señalando que para que los resultados del modelo sean fiables el área ha de ser de similares características geológicas, topográficas y físicas. En los modelos que presenta, el bosque actúa como un sumidero o una zona de transformación activa. Además si la proporción de este uso es alta en la zona, la concentración de nitratos disminuye. Por el contrario, la zona urbana, es identificada como una fuente de nitratos, seguida por la zona agrícola. En uno de los modelos se incluye además la contribución de nutrientes debido al uso de fertilizantes en huertos, contribuyendo además, junto con la zona agrícola y urbana, al alto contenido en sólidos en suspensión.

Para Sliva y Williams (2001), el uso urbano presenta el mayor efecto sobre la calidad del agua (amonio, cobre, sólidos totales, cloro y coliformes totales). Por el contrario, la tierra forestal se relaciona negativamente con la disminución de la calidad del agua, aunque en ocasiones da lugar a un aumento en las concentraciones de amonio principalmente durante el otoño. Jonnalagadda y Mhere (2001) estudiaron distintos

parámetros en las aguas del río Odzi (Zimbawe) relacionando un descenso en el pH con las escorrentías procedentes de minas abandonadas, el aumento de los sólidos en suspensión con aguas de escorrentía de granjas, la D.B.O. con actividades acuícolas y el aumento de nitratos y fosfatos con el uso de fertilizantes en agricultura.

Montluçoz y Sañudo-Wilhelmy (2001) realizaron un estudio sobre la contribución que las filtraciones de las aguas subterráneas tienen sobre los nutrientes inorgánicos (NO_3 , PO_4 y Si), carbono orgánico disuelto, nitrógeno orgánico disuelto y metales traza en una zona costera con entradas fluviales limitadas teniendo en cuenta además las diferencias estacionales en el flujo del agua subterránea y los usos de la tierra. En este estudio las altas concentraciones de nitratos y fosfatos sirven para trazar el efecto que la aplicación de fertilizantes químicos y naturales ejercen en las aguas, mientras que el aumento en los contenidos de cadmio y cobre se relacionan con el uso de pesticidas. Además, al igual que en otros estudios expuestos anteriormente, las altas concentraciones de plata y fosfatos indicaron la presencia de aguas residuales urbanas.

Además de utilizar las concentraciones de los elementos trazadores para identificar el origen y extensión de la contaminación humana, también son útiles para conocer los efectos producidos cuando se realizan cambios en una determinada actividad, o bien se pasa de una actividad a otra. Por esta razón es importante realizar una correcta caracterización de las actividades desarrolladas y determinar qué parámetros pueden verse afectados por los cambios producidos en dichas actividades. En este sentido, Sañudo-Wilhelmy y Gill (1999) realizaron un estudio para demostrar el impacto que la aplicación de la Ley del Agua ha tenido en los niveles de metales tóxicos en el estuario del río Hudson (EE.UU.). Los contenidos de cadmio, cobre, níquel y zinc en dicho río disminuyeron desde la entrada en vigor de la ley al disminuir los efluentes de aguas residuales y operaciones industriales. En este trabajo se utilizan varios elementos como trazadores de diversas actividades a lo largo de la cuenca. Así, el fosfato y la plata aumentan en áreas metropolitanas donde existen numerosas descargas de aguas residuales, apareciendo los máximos durante periodos de bajo caudal. Sin embargo, las concentraciones de plomo y mercurio fueron mayores río arriba y en condiciones de alto caudal, pudiendo tener su procedencia en escorrentías de cuencas adyacentes que transportarían plomo y mercurio de origen antropogénico almacenado en los suelos.

En el río Thame (Inglaterra) la contribución de fósforo a partir de las aguas residuales ha disminuido como consecuencia del aumento en el uso de detergentes libres de fosfatos y, más recientemente, gracias a la introducción en una de las principales estaciones de tratamiento de la zona de una técnica de eliminación de fósforo de las aguas en el año 1998. De hecho, aunque las entradas debidas a las aguas residuales siguen siendo de notable importancia, cuando se realiza el cómputo total anual la contribución de las fuentes difusas excede la de las puntuales (Cooper y col., 2002).

Igualmente, en el estuario del Forth (Inglaterra) se describió el aumento de los niveles de oxígeno disuelto como consecuencia de una mejora en el tratamiento de las aguas residuales así como al cierre de algunas de las industrias existentes en la zona (Balls y col., 1996).

Así pues, el conocimiento global de las características de un determinado curso de agua y de la influencia que las distintas actividades humanas pueden ejercer sobre él permitirá establecer cuáles son las estrategias para alcanzar un compromiso entre el uso de la tierra y la calidad de las aguas. Este conocimiento puede ser adquirido mediante la identificación de diferentes especies químicas susceptibles de ser utilizadas como trazadores de los efectos producidos por las diferentes actividades, tanto naturales como antropogénicas, desarrolladas en la cuenca de la corriente de agua en estudio.

ELEMENTOS TRAZA EN AGUAS NATURALES

Como elementos traza se entiende aquellos que se encuentran en las aguas en concentraciones inferiores a $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, pudiendo hablar de ultra-trazas cuando la concentración disminuye por debajo de $1 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Los elementos traza en las aguas naturales participan en una gran variedad de procesos que pueden cambiar sus formas físico-químicas, su distribución espacial y afectar a su asimilación por parte de los organismos. Dada su baja concentración un pequeño cambio en ella puede afectar considerablemente a las reacciones en las que participan. Como ya se ha comentado, la introducción de este tipo de elementos en las aguas a partir de actividades antropogénicas ha aumentado a lo largo de los años, debido al creciente desarrollo industrial y la agricultura intensiva, lo cual ha generado importantes cambios en

numerosos ecosistemas acuáticos. No hay que olvidar que entre estos elementos cobran una importancia especial los metales pesados, debido a que, incluso aquellos que son esenciales para el metabolismo, son potencialmente tóxicos a bajas concentraciones. Entre los metales que pueden resultar tóxicos para los organismos acuáticos se pueden mencionar, siguiendo un orden de toxicidad decreciente: Hg, Cd, Cu, Zn, Ni, Pb, Cr, Al, Co (Kennish, 1997).

Para entender el papel que los elementos traza juegan en los ecosistemas acuáticos no hay que olvidar que su comportamiento difiere en algunos puntos del correspondiente a los metales mayoritarios. Por ejemplo, a bajas concentraciones las sustancias tienden a ser adsorbidas sobre las superficies de partículas sólidas de baja capacidad de adsorción que se encuentran en el sistema acuático. Mientras que la adsorción en el caso de los elementos mayoritarios puede ser despreciable, en el caso de los traza puede afectar en gran medida a su comportamiento. Por otro lado, si ocurre la precipitación de sustancias presentes a bajas concentraciones no conducirá a la formación de partículas mayores a un tamaño coloidal, y la naturaleza y abundancia de las partículas formadas son difíciles de determinar. Además, al encontrarse estas sustancias en concentraciones tan bajas cobra una importancia especial su interacción con otras sustancias presentes en el sistema, pudiendo conducir a una alta variabilidad en las condiciones de dicho sistema (Benes y Steinnes, 1995).

Dentro de los sistemas acuáticos las concentraciones a las que aparecen los elementos traza en las aguas están principalmente controladas por las interacciones entre agua, sedimentos, partículas en suspensión y los organismos vivos. Es posible por tanto clasificar los elementos traza según si el control que rige su comportamiento es físico-químico o biológico. De este modo pueden considerarse las siguientes categorías (Hart y Hines, 1995):

- a. Elementos controlados por procesos biológicos: Un buen ejemplo es el nitrato, el cual, dependiendo de las condiciones redox puede conducir a un aumento o disminución de las distintas especies nitrogenadas mediante procesos de nitrificación/desnitrificación dependiendo de las bacterias que predominen en el medio. El carbono es otro ejemplo de elemento controlado por procesos biológicos.

- b. Elementos controlados por procesos geoquímicos: Como el cobre, zinc, plomo y cadmio, cuyo comportamiento depende del balance entre la complejación con materia orgánica disuelta y la asociación con las superficies de la materia suspendida o coloidal.
- c. Elementos cuyo control varía dependiendo del sistema: El fósforo puede depender de procesos geoquímicos, como su adsorción a formas coloidales y particuladas de óxidos de hierro, o bien de procesos biológicos como su consumo por bacterias y algas. El comportamiento del hierro y manganeso va a depender de las condiciones redox existentes en el sistema, ya que en condiciones anóxicas están generalmente en forma disuelta, y por otro lado reacciones microbianas y fotoquímicas pueden influir en la forma en que se presentan estos metales.

Todos estos procesos se pueden producir en cualquier ecosistema acuático, pero es en la zona estuárica donde su estudio cobra un especial interés debido a que en esta zona la mezcla de dos masas de agua de características muy diferentes genera una serie de gradientes químicos que favorecen una multitud de reacciones, principalmente entre la fase disuelta y la particulada. Para conocer cómo afecta esta mezcla a las concentraciones de metales traza que los ríos transportan al océano es importante determinar los contenidos que aportan el extremo marino y el fluvial, teniendo en cuenta la influencia que las distintas fuentes pueden ejercer en las características de ambas masas de agua.

Un inconveniente en la determinación de estos elementos traza en las aguas naturales radica principalmente en la baja concentración en la que se encuentran. En el caso de las aguas salinas, la dificultad se ve notablemente incrementada por la complejidad de la matriz. Actualmente, los trabajos destinados a determinar metales traza, y en especial ultra-traza, tienen un cuidado especial a la hora de la recogida de muestras y su manipulación para evitar en lo posible problemas de contaminación. Para ello se recurre a la aplicación de técnicas limpias, las cuales serán abordadas posteriormente. Este hecho, unido a la utilización de técnicas analíticas con menores límites de detección ha conseguido la obtención de valores fiables de concentración de metales traza en aguas.

Elementos traza en ríos

La dinámica de los elementos traza en las corrientes de aguas y los ríos resulta más compleja que en lagos y océanos, ya que hay que tener en cuenta el flujo de las aguas hacia la desembocadura que arrastra a los elementos en esa dirección. Durante este movimiento se producen interacciones entre los distintos compartimentos que forman el río, es decir, el agua, la materia suspendida (seston) y el bentos, afectando a los elementos traza. En el agua los elementos pueden aparecer en forma disuelta o coloidal, con la consiguiente interacción entre ambas fases. La materia suspendida engloba materia particulada en suspensión de origen no biótico y material biológico como bacterias y fitoplancton. El bentos agrupa a los sedimentos y las capas de algas y microbios. Las características de cada uno de estos compartimentos dependerán del tipo de río y las interacciones entre ellos incluyen transformaciones químicas y procesos biológicos (Hart y Hines, 1995). Las reacciones que se producen entre los distintos compartimentos que forman el río van a depender de los aportes y pérdidas de los distintos elementos así como de la forma en la que estos elementos entran en el sistema (disuelta o particulada), y ésta a su vez dependen en gran medida del origen de dichos elementos.

Las fuentes naturales de metales traza en ríos son principalmente la erosión de la propia cuenca y la deposición atmosférica, siendo normalmente muy lentas las variaciones de concentración que se producen por esta vía. Generalmente, excepto en zonas muy poco afectadas por el hombre, las descargas antropogénicas son las responsables habituales de las alteraciones bruscas en la concentración de metales en los ríos. En relación a este tipo de alteraciones, Neal y col. (2000c) han descrito los efectos que las descargas de aguas residuales y las actividades mineras de carbón y plomo-zinc producen sobre la calidad de las aguas del río Wear (Inglaterra). Las altas concentraciones de litio y rubidio encontradas no se corresponden con las características de la cuenca, identificando su origen en las actividades industriales que se realizan en la zona. Del mismo modo los contenidos de boro reflejan las entradas de aguas residuales al río y las actividades mineras contribuyen especialmente a los niveles de bario, plomo y zinc.

La entrada de elementos traza a los ríos se ve fuertemente afectada por las lluvias y los caminos que estas aguas siguen hasta llegar al río. El aporte de elementos a

partir de esta fuente no se basa únicamente en la composición natural de las aguas de lluvia, sino en la que adquieren durante su recorrido por la tierra al interactuar con los suelos. Así, la lluvia genera la existencia de escorrentías superficiales y subsuperficiales (drenajes) que junto con las aguas subterráneas conforman las principales entradas de elementos traza a los ríos. Cuando el caudal del río es bajo destaca el efecto de las aguas subterráneas, mientras que en época de alto caudal son las escorrentías las que más influyen en las concentraciones de los distintos elementos en los ríos, así como en la forma en la que aparecen. No hay que olvidar que las aguas de escorrentía producen una fuerte entrada de materia en suspensión, con lo que las fases particuladas de metales traza aumentan su concentración (Hart y Hines, 1995). Así pues, es importante considerar la variación en el caudal del río en el estudio de los niveles de elementos traza en sus aguas, así como en las reacciones que se producen entre la fase disuelta y la particulada. Neal y col. (1997) señalan que en los ríos que conforman el estuario Humbert (Inglaterra) la fase particulada aumenta siempre al aumentar el flujo, afectando principalmente a aquellos elementos con una alta concentración en la fase particulada, como el aluminio o el hierro. Por el contrario, la fase disuelta sigue un comportamiento totalmente inverso al producirse un efecto de dilución, afectando sobre todo a metales como el boro, rubidio, escandio, litio, o estroncio. Estos autores consideran además que las variaciones en el caudal influyen de manera diferente a elementos con diferente origen. Así, indican que al aumentar el caudal se observa un aumento en los niveles de metales procedentes de fuentes difusas, como molibdeno, níquel, plomo, aluminio, hierro en los ríos de zonas mineras, mientras que en los ríos de zonas urbanas se produce una disminución en las concentraciones de litio, rubidio, cromo, arsénico, cobalto, molibdeno y níquel como consecuencia de un efecto de dilución en las fuentes puntuales. Un estudio realizado en el río Kleine Aa (Suiza) las concentraciones totales de cadmio, zinc y cobre se relacionaron linealmente con el caudal de agua. La mayor parte de los metales eran transportados durante la época de lluvia, lo cual resulta coherente con la existencia de una fuente difusa agrícola (Xue y col., 2000).

Agrawal (1999) realiza un estudio sobre la polución de diferentes cauces fluviales en la India, centrándose principalmente en la de origen agrícola y en las altas cargas de sedimentos que se producen junto con grandes cantidades de sales disueltas, nutrientes, compuestos orgánicos, metales pesados y contaminantes bacterianos. Este

autor observa que en los periodos de escasez de lluvias las fuentes de contaminación agrícola parecen no tener impacto sobre la calidad de las aguas, y la contaminación se encuentra controlada por los usos del río, como aguas residuales de comunidades rurales y puntos de descarga de fuentes urbanas e industriales. Durante los periodos de lluvia, sin embargo, el factor dominante de la contaminación estuvo constituido por las fuentes agrícolas, pudiendo relacionarse con esta actividad las altas concentraciones de nitratos encontradas en varias zonas incluyendo aguas subterráneas.

Elementos traza en estuarios

Los estuarios son zonas en las que entran en contacto dos masas de agua de características muy diferentes. Por esta razón, a lo largo del estuario se generan gradientes de temperatura, salinidad, oxígeno disuelto, pH, tipo de partículas, etc., que inducen la existencia de una pronunciada reactividad bioquímica incluyendo sorción, floculación, etc. Estos procesos modifican drásticamente la composición de las aguas que llegan de los ríos, y deben ser tenidos en cuenta para determinar los flujos químicos y redefinir los balances de masa geoquímicos al océano.

La reactividad de los elementos disueltos en un estuario ha sido interpretada a partir de su representación frente a un constituyente que dependiera única y exclusivamente del índice de mezcla entre la parte fluvial y la marina. El constituyente que mejor representa este índice de mezcla es la salinidad, así que en los estudios en zonas estuáricas es habitual ver diagramas en los que se representa la concentración de un determinado elemento frente a la salinidad. Si en estos diagramas se traza una línea que una la concentración hallada en la salinidad cero con aquella obtenida en el extremo marino se obtendrá la línea de dilución teórica. Si las concentraciones determinadas para un elemento a lo largo del gradiente de salinidad siguen esta línea se dice que su comportamiento es conservativo, mientras que si se desvía de ella el elemento sigue un comportamiento no conservativo, indicando que existe una adición o una pérdida respecto a la mezcla (Boyle y col., 1974).

Entre las múltiples reacciones que un metal traza puede sufrir al entrar en un estuario se puede destacar (Millward y Turner, 1995):

a. Floculación:

La retirada de hierro que tiene lugar de forma habitual en la zona de baja salinidad es el resultado de la desestabilización y posterior floculación de coloides orgánicos de hierro cargados negativamente al encontrarse con los cationes mayoritarios del agua de mar. En algunas ocasiones se ha observado una retirada de otros metales disueltos por medio de la floculación de formas coloidales al mezclarse las masas de agua. Se ha demostrado que este proceso depende de la salinidad y que ya es completo para una salinidad de 20. Además la retirada sigue el orden siguiente: Fe (95%) > Cu, Ni (40%) > Mn (25-45%) > Al (20%) > Co (10%) > Cd (5%), reflejando las afinidades relativas de los metales traza por los aniones marinos y por las formas coloidales con compuestos húmicos.

b. Oxidación y precipitación de manganeso:

El comportamiento del manganeso en las aguas estuáricas está fuertemente influenciado por su química redox. Teóricamente la oxidación del manganeso soluble en óxidos precipitables en sistemas acuáticos es muy lenta, pero la reacción es catalizada si existen óxidos de manganeso y actividad microbiana.

c. Sorción:

La sorción es un mecanismo fundamental en el ciclo geoquímico de los elementos traza en estuarios. Estudios realizados en laboratorio han demostrado un descenso de la afinidad de los metales traza por la fase sólida al aumentar la salinidad. Este comportamiento puede ser atribuido a una mayor competición de los cationes polivalentes del agua de mar por los lugares activos de la superficie de las partículas, o bien a un aumento de la tendencia de los metales a formar clorocomplejos disueltos más estables. Se ha demostrado que un aumento en la clorinidad elimina el proceso de sorción en el orden siguiente: Cd > Ni > Cu, Pb > Zn.

Debido a la dependencia de estas reacciones de las características de las aguas que se mezclan, no existe un comportamiento único de cada elemento en la zona estuárica, sino que dependerá de cada sistema. Así, habrá elementos que se comportan

conservativamente en un estuario y sean no conservativos en otro. Además, puede darse el caso de que en un sistema un mismo elemento sufra una adición en relación a la mezcla y en otro sufra una remoción. Incluso puede ocurrir que existan diferencias para un determinado elemento en un mismo estuario dependiendo de la época o de las condiciones del extremo fluvial o marino.

Dassenakis y col. (1997) realizaron un estudio del comportamiento de los metales traza disueltos y particulados (Cu, Pb, Zn, Ni, Mn, Fe, Al) en el estuario del río Acheloos (Grecia). En el caso de los metales particulados las concentraciones siempre fueron más bajas en las muestras marinas que en las fluviales y estuáricas, debido a la dilución y deposición de material particulado aportado por el río y a un proceso de desorción. Del mismo modo, los metales disueltos fueron aumentando al alejarnos de la desembocadura debido al intercambio iónico de los particulados por los cationes del agua de mar, a diferencia de lo que ocurre en ríos contaminados, donde los metales disueltos presentan sus niveles más altos en el agua del río. En este trabajo todos los metales, tanto disueltos como particulados mostraron un comportamiento no conservativo, siendo la tendencia general la de una retirada hacia el sedimento.

Por el contrario, la retirada de hierro y cobre en el estuario del río King (Tasmania), que es completa para una salinidad de 10, no se ha relacionado con la materia particulada. Featherstone y O'Grady (1997) sostienen que la retirada de cobre coincide con la de hierro, indicando que estaría relacionada con la formación de flóculos de hierro. Parece ser que el rápido aumento de pH relacionado con el aumento de la salinidad origina que el cobre disuelto sea adsorbido sobre oxihidróxidos de hierro recién formados.

En el estuario del río Sena (Francia), Chiffolleau y col. (1999) calculan los flujos de cadmio, plomo, cobre, zinc y níquel al mar durante condiciones de alto y bajo caudal. El cadmio disuelto se caracteriza por presentar un comportamiento no conservativo caracterizado por un fuerte aumento en la concentración en la zona de baja salinidad debido a su desorción en presencia de agua de mar. Para salinidades mayores se produce un descenso debido a dilución. El plomo, por el contrario disminuye rápidamente su concentración al ser adsorbido a partículas, manteniendo después un comportamiento conservativo en casi todo el rango de salinidades. En general el cobre presentó un comportamiento conservativo, con algún caso de desorción para salinidades inferiores a

10. El zinc mantuvo un comportamiento intermedio al cadmio y cobre, con reacciones de adsorción-desorción principalmente cuando la materia particulada era elevada y la salinidad baja. El níquel fue conservativo prácticamente en toda la zona de mezcla.

En el estuario del río Scheldt (Países Bajos), las concentraciones de cadmio, cobre y zinc muestran una pronunciada variabilidad estacional debida principalmente a las diferencias en los aportes fluviales. Durante el invierno, las concentraciones de cobre y zinc en las aguas del río fueron altas, descendiendo bruscamente en la zona de baja salinidad para mostrar después un aumento gradual hasta alcanzar un máximo en la zona de salinidad intermedia, a partir del cual vuelve a descender debido a la dilución con el agua de mar. Durante el verano cabe destacar las bajas concentraciones que aporta el río, aunque el perfil a lo largo del rango de salinidad es similar al observado durante el invierno (Zwolsman y col., 1997). En la misma zona, Nolting y col. (1999) determinaron las distribuciones de metales traza para realizar una comparación con las concentraciones observadas durante 1978. Para el hierro se observa la formación de oxihidróxidos, con la consecuente disminución de este elemento en la fase disuelta, aumentando la fracción particulada entre las salinidades 3-7. Adicionalmente a este proceso ocurre la resuspensión de sedimentos con contenidos en hierro. El manganeso también se encuentra afectado principalmente por cambios en las condiciones redox. Así, en cuanto el oxígeno disuelto experimenta un aumento para salinidad 15 se produce la retirada de manganeso de la fase acuosa precipitando como oxihidróxidos. El cromo es el único metal en el estuario que mantiene un comportamiento conservativo, mientras que el plomo permanece constante para salinidades mayores de 15 aumentando notablemente en la zona de alta salinidad. Este aumento en los niveles de plomo puede ser atribuido a entradas externas, como fuentes locales de contaminación, deposición atmosférica o material enriquecido en este metal procedente de la zona intermareal. Para el cobre el contenido en la fracción particulada experimenta un descenso en el medio y alto estuario, siendo controlada su distribución por la mezcla de partículas de origen fluvial con alto contenido en cobre y otras de origen marino con niveles inferiores de este metal.

Entre los factores que gobiernan la distribución de las concentraciones de cadmio y manganeso en el río Hudson (Estados Unidos) se encuentran el caudal del río, las entradas antropogénicas y la removilización de los metales a partir de las partículas

en suspensión (Yang y Sañudo-Wilhelmy, 1998). La fuente más significativa del manganeso en el estuario parece ser la natural, mientras que el cadmio tendría su origen en el vertido de efluentes de aguas residuales tratadas y en el aporte de efluentes industriales u otros afluentes, especialmente durante la época de bajo caudal. En general, las concentraciones de ambos metales tienden a disminuir cuando aumenta el caudal del río. Uno de los mecanismos principales que afecta a las concentraciones de estos metales es la removilización del cadmio y manganeso disuelto a partir de la materia suspendida en respuesta a cambios en la salinidad. El impacto de los procesos de desorción sobre los niveles de metales disueltos es más significativo cuando el caudal del río es mayor, ya que en condiciones de bajo caudal las partículas de origen fluvial no son transportadas a la zona de alta salinidad.

Todos estos ejemplos permiten comprender la complejidad del comportamiento de los metales traza en los estuarios, así como la multitud de factores a considerar para quienes quieren determinar su comportamiento. A este inconveniente hay que añadir la dificultad que presenta la determinación de metales traza en este tipo de muestras debido a las bajas concentraciones en las que aparecen estos elementos y a la complejidad de la matriz.

CAPÍTULO II.

ESTUDIOS PRELIMINARES

Al comienzo de todo trabajo de investigación, y teniendo en cuenta los objetivos planteados, es importante determinar cuál va a ser la metodología a utilizar. En este punto, bajo el término metodología englobaremos todas las etapas experimentales del método analítico, incluyendo la selección del material a utilizar, así como los protocolos de limpieza de dicho material, y las técnicas analíticas más apropiadas al tipo de muestra y a los distintos parámetros a analizar.

Como ya se ha mencionado, el presente trabajo se ha llevado a cabo a lo largo del río Guadalquivir, incluyendo su zona estuárica, lo que conlleva la necesidad de manipular muestras de salinidades variadas y, por lo tanto, con diferentes matrices. Este hecho determinará en gran medida la metodología analítica utilizada, cobrando especial importancia la realización de estudios previos en los que se determine la respuesta de las distintas técnicas a los cambios de matriz en las muestras.

Por otro lado, los elementos que interesa determinar son principalmente elementos traza en aguas. Como ya se ha comentado, uno de los principales problemas del análisis de los elementos traza en muestras de aguas es la baja concentración a la que estos elementos se encuentran. Es por ello que se debe poner especial énfasis en la elaboración del plan de muestreo, en la selección del material a utilizar y en su limpieza, así como en las técnicas y métodos analíticos elegidos para realizar las determinaciones de los distintos parámetros.

En la actualidad existen multitud de técnicas analíticas que permiten la determinación de elementos traza en aguas salinas, bien mediante un paso previo de preconcentración o bien de forma directa. Los avances llevados a cabo en el desarrollo de dichas técnicas han permitido conseguir límites de detección cada vez más bajos, pero esto ha añadido un nuevo problema, relacionado con la posible contaminación de las muestras durante los procesos de muestreo y manipulación previos al análisis, ya que esta contaminación puede producir errores muy significativos. Aunque en la actualidad el uso de técnicas limpias durante el muestreo y preparación de la muestra se encuentra muy extendido, en España todavía no se han implantado con fuerza debido a su complejidad y a los altos costes que conllevan. Es por ello que en este trabajo se presenta el proceso de implantación de técnicas de ultralimpieza durante el muestreo y preparación de las muestras en los laboratorios del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Cádiz.

Así pues, a lo largo de este apartado se presentarán las técnicas de muestreo utilizadas, los protocolos de limpieza que se han seguido para la preparación del material requerido a lo largo de todo el trabajo y las técnicas utilizadas para la determinación de los parámetros de interés en muestras de distinta salinidad.

DETERMINACIÓN DE METALES TRAZA EN AGUAS NATURALES

Son muchas las dificultades asociadas al análisis de metales traza en aguas naturales, fundamentalmente relacionadas con sus bajas concentraciones y, en algunos casos, con la complejidad de la matriz. Si se desean obtener valores fiables de concentración de metales traza en muestras de agua hay que tener un especial cuidado en la realización de cada una de las etapas experimentales que componen el análisis. Estas etapas comienzan con la toma de muestra y el almacenamiento de la misma, la realización de una etapa de preconcentración y la determinación analítica de los elementos de interés. Cada uno de estos pasos implica una manipulación de la muestra que puede originar cambios en su composición, de modo que se obtengan resultados que no representen la realidad. Estos cambios suelen deberse a problemas de contaminación y es por ello que desde hace algunas décadas se han introducido las

técnicas de limpieza durante el muestreo y posterior tratamiento de la muestra. En este sentido, fueron pioneros los trabajos realizados por Patterson y Settle (1976), quienes se percataron de que las medidas de las concentraciones ambientales de plomo eran con frecuencia erróneas debido a la contaminación de las muestras con plomo, y desarrollaron los primeros protocolos de limpieza para el muestreo y manipulación de las muestras en el análisis elemental de matrices ambientales. Otros autores se hicieron partícipes de la utilización de este tipo de técnicas limpias para la determinación de elementos traza en aguas naturales, como por ejemplo Bruland y Franks (1979). Actualmente su uso se ha extendido por todo el mundo y entre las prácticas más habituales pueden citarse el uso de laboratorios con atmósfera controlada, protocolos exhaustivos para la limpieza de material y purificación de los reactivos utilizados en el tratamiento de las muestras, así como el uso de material y accesorios hechos de materiales libres de contaminación metálica (Ahlers y col., 1990; Nriagu y col., 1993; Rhoades, 1996; Benoit, 1997; Ferrari y col., 2000; Campos y col., 2002).

La introducción de este tipo de técnicas limpias, así como los desarrollos experimentados por las técnicas analíticas instrumentales ha permitido disminuir los límites de detección demostrando que las concentraciones en aguas naturales no contaminadas eran entre 10 y 1000 veces inferiores a las que habían sido determinadas con anterioridad. Por ejemplo, Creasey y Flegal (1999) realizaron una comparación entre las concentraciones de metales halladas en aguas subterráneas con y sin el uso de técnicas de ultra-limpieza. Estos autores describieron concentraciones de cadmio en aguas no contaminadas hasta 28 veces menores cuando se usaron técnicas limpias frente a técnicas convencionales, y de hasta 9 veces menores en aguas contaminadas. Del mismo modo se han descrito diferencias para el cromo (hasta 700 veces menores), cobre (53 veces), níquel (3,6 veces), plomo (1000 veces) y zinc (100 veces). En un estudio similar, Ivahnenko y col. (2001) utilizaron técnicas limpias para la toma de muestras y determinación de elementos traza en aguas subterráneas, comparando las concentraciones obtenidas con el uso de estas técnicas con aquellas que habían sido obtenidas tres años atrás con los métodos tradicionales de muestreo y análisis. El uso de las técnicas limpias consiguió minimizar la contaminación de las muestras al nivel de $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ y eliminó la existencia de anomalías en las concentraciones de determinados elementos como el plomo.

A continuación se describen los principales problemas que conllevan cada una de las etapas experimentales en las que se divide el análisis, así como los métodos aplicados para resolver, en la medida de lo posible, dichos inconvenientes.

Toma de muestra

Antes de comenzar un determinado proyecto hay que plantearse el objetivo que tiene realizar el estudio, ya que dependiendo de esto la elección de la estrategia de muestreo será una u otra. Así, el estudio de metales traza en aguas naturales puede estar enfocado a la caracterización de una zona determinada, establecimiento de valores de referencia, o determinación de las distintas especies en que se presenta el elemento. En todo caso, habrá que evitar la posible contaminación que pueda producirse durante la toma de muestras, garantizándose así la fiabilidad de los resultados.

En los estudios de caracterización de una determinada zona geográfica, como un río o estuario, es habitual realizar la toma de muestras desde un barco. Este hecho conlleva el primer riesgo de contaminación de la muestra ocasionada por los humos producidos por los motores de la embarcación, por lo que es necesario tener en cuenta factores como la dirección del viento y el control de la embarcación. Por otro lado, durante la toma, el material que no es utilizado en el momento debe permanecer herméticamente cerrado para evitar su contacto con los gases, utilizándose para ello generalmente bolsas de plástico con cierre. Una vez que ese material va a ser utilizado las bolsas deben ser abiertas por una persona mientras que otra persona, con guantes limpios en las manos, es la que debe coger el material del interior de dichas bolsas. De este modo se previene la contaminación producida por el contacto del material con superficies que no están limpias.

Una vez que se va a efectuar la toma de muestras propiamente dicha, hay que tener en cuenta qué fracción de la muestras se quiere analizar. Tanto si lo que se quiere es realizar la determinación de la fase disuelta como la del material particulado, es necesario realizar la filtración del agua, proceso que constituye una fuente más de contaminación. Por esta razón es habitual que los filtros utilizados para separar la fase disuelta de la particulada hayan sido sometidos previamente a un exhaustivo protocolo de limpieza en el que intervienen diferentes tipos de ácidos.

Por otro lado, la forma clásica de realizar dicha filtración, consistente en tomar el agua y filtrarla una vez que se llegaba al laboratorio, requería una excesiva manipulación de la muestra y un mayor riesgo de contaminación. Actualmente se han desarrollado sistemas de filtración que pueden acoplarse en línea al sistema de toma de muestras de forma que las dos fases pueden ser separadas “in situ”. Además, el desarrollo de sistemas de inyección de flujo (FIA) ha permitido incluso que la muestra pueda ser analizada “in situ” en el lugar de la toma, minimizando el riesgo de contaminación y consiguiendo obtener resultados relativos a la situación real en la que se ha realizado el muestreo. En este aspecto De Jong y col. (2000) realizaron una revisión de este tipo de técnicas en la determinación de hierro, aluminio y manganeso en agua de mar y señalaron que mediante su uso han podido conseguirse límites de detección por debajo de 0,5 nM.

El inconveniente de este tipo de técnicas de análisis “in situ” es la necesidad de barcos con espacio suficiente para montar todo el equipo analítico, lo cual no suele ser posible para la mayoría de los grupos de investigación. Por esta razón hay que tener en cuenta la necesidad del almacenamiento de las muestras que se recogen durante la toma hasta su análisis en el laboratorio, periodo que puede abarcar desde varios días a meses dependiendo de la disponibilidad de los equipos y del personal.

Almacenamiento de muestras

Durante el almacenamiento de la muestra pueden producirse diferentes cambios en su constitución derivados principalmente de su contacto con el material del recipiente colector y de las propias características de la muestra, ya que constituye un sistema químico en el que pueden ocurrir multitud de reacciones. Por esta razón y teniendo en cuenta la necesidad de que la muestra se mantenga fiel a sus características en el lugar donde ha sido recogida, es necesario prestar una importancia especial a la selección de los recipientes colectores y al método empleado en su conservación. Ambos puntos dependerán en gran medida del tipo de determinación al que va a ser sometida dicha muestra.

1. Material para el almacenamiento

Existen distintos procesos que están relacionados con los recipientes colectores y que pueden afectar a las concentraciones de metales traza en el agua después de la toma de muestra (Reimann y col., 1999). Estos son:

1. Las paredes internas de las botellas pueden estar contaminadas con elementos traza, y su desorción produciría un aumento de la concentración del elemento en la muestra.
2. En la fabricación de plásticos pueden usarse como estabilizadores o catalizadores un buen número de elementos (Al, Ba, Cd, Cr, Hf, Mg, Mo, Ni, Pb, Pr, Si, Ti, V, W, Zn, Zr). Estos elementos pueden ser lixiviados de las paredes cuando acidificamos las muestras para su conservación.
3. Muchos elementos (Ag, Au, Hg) tienden a ser adsorbidos e incluso a migrar en el interior de las paredes de las botellas. Este efecto varía según el tipo de plásticos y puede llevar a una disminución de las concentraciones de estos elementos en las muestras.
4. Es posible que las diferentes texturas y propiedades de diferentes plásticos puedan inducir o retardar la precipitación (aunque una acidificación adecuada de la muestra puede evitar este efecto).
5. Los distintos plásticos poseen distintas permeabilidades a los gases, con lo que se puede producir una ganancia o una pérdida de algunos como el dióxido de carbono.
6. Es posible que diferencias en las propiedades ópticas de los distintos envases permitan la transmisión de luz de diferentes longitudes de onda que pueden promover selectivamente reacciones fotoquímicas.

Así pues, en primer lugar es importante tomar una decisión sobre el tipo de envase que se va a utilizar para almacenar las muestras una vez que han sido recogidas. Reimann y col. (1999) realizaron un estudio cubriendo 62 elementos en cuatro tipos distintos de botellas, polietileno de alta densidad (HDPE), polipropileno (PP), un copolímero fluorado de etileno propileno (FEP) y un polímero de perfluoroalcoxy (PFA). Además tuvieron en cuenta en algunos casos las diferencias obtenidas cuando se utilizan botellas nuevas sin tratar y botellas que han sido previamente lavadas con ácido.

Finalmente concluyen que es suficiente el uso de botellas de HDPE o PP para la recogida de muestras de agua para el análisis de metales con ICP-MS. A pesar de que se encontraron problemas para unos pocos elementos (Al, Cr, Hg, Pb y Sn) se plantea la posibilidad de que una limpieza exhaustiva de las botellas podría mejorar los resultados.

Gasparon (1998) comparó tres tipos de material para la recogida de muestras de agua en lagos de agua dulce en la Antártida: Teflón, HDPE y polietileno de baja densidad (LDPE). En este caso se considera como mejor opción el Teflón, por dar los blancos más bajos y no necesitar una limpieza tan compleja como el HDPE, que a pesar de dicha limpieza sigue mostrando unos blancos relativamente elevados para el zinc. Finalmente el LDPE es considerado insustituible para algunos de los metales de mayor relevancia ambiental, y se indica que lo importante es que todos los materiales y procedimientos de muestreo deben ser adecuadamente tratados y examinados.

Lee y Lee (1999) estudiaron las variaciones en las concentraciones de metales traza en las muestras y patrones causadas por el uso de distintos tipos de materiales en el almacenamiento de las muestras. En este caso los materiales utilizados fueron LDPE, HDPE, PP, HDPE ámbar y vidrio. El metal que era adsorbido preferentemente en las paredes de las botellas fue el estaño, a excepción de las botellas de PP. Pero para metales como el mercurio y la plata no se encontró que existiera una adsorción a las paredes durante los 80 días de almacenamiento. Por otro lado estos autores recomiendan el almacenamiento de las muestras acidificadas con ácido nítrico, puesto que así presentan una mejor estabilidad que en el caso del ácido clorhídrico.

Sekaly y col. (1999), por el contrario, afirman que no todos los tipos de plástico son adecuados para la toma de muestras ambientales. Estos autores realizaron un estudio de la estabilidad de muestras de agua fluvial superficial, nieve y agua de lluvia almacenada en tres tipos de botellas distintas, HDPE, PP y Teflón. Todas las botellas fueron previamente lavadas siguiendo un riguroso protocolo y las muestras se almacenaron en ellas sin acidificar, variando su pH en el rango de 4-8. En las botellas de HDPE y PP se detectaron pérdidas de metales (Pb, Cd, Cu, Zn) en las primeras horas de almacenamiento independientemente del tipo de muestra, mientras que en las de Teflón las concentraciones se mantenían constantes durante más de 24 horas.

Como puede comprobarse, no existe un criterio común en cuanto al uso de un determinado material para almacenar las muestras de agua para el análisis de metales

traza, aunque todos los autores están de acuerdo en que una limpieza exhaustiva de las botellas puede mejorar los resultados. Dicha limpieza debe ser cuidadosa, teniendo en cuenta que durante este proceso utilizamos reactivos que pueden aportar elementos nuevos al material. De modo que a la hora de elegir el protocolo de limpieza se debe cuidar también los reactivos utilizados, así como el agua con la que se limpian finalmente las botellas.

2. Conservación de las muestras

Como ya se ha comentado, los componentes de una muestra pueden ser modificados debido a la existencia de diferentes reacciones químicas, como oxidación, reducción o hidrólisis, procesos físicos como evaporación o adsorción sobre las paredes de los recipientes colectores, o bien procesos biológicos como el consumo de algunos compuestos por bacterias, algas y otros organismos acuáticos. Para evitar en lo posible la existencia de este tipo de procesos durante el almacenamiento de la muestra, es recomendable utilizar alguna técnica de preservación. Para que la conservación sea efectiva es recomendable realizar la toma de muestras individuales para un parámetro determinado, y el método elegido para preservar las muestras debe ser compatible con la técnica analítica que se va a utilizar en la determinación del analito.

Siguiendo la división que realizaron Sliwka-Kaszynska y col. (2003) se pueden diferenciar tres tipos de preservación: física, química o una combinación de ambas.

En la *preservación física* la ventaja es que no se introduce ningún compuesto químico en la muestra. El método se caracteriza por una adecuada selección del tipo de contenedor a utilizar así como de la preparación previa de dicho contenedor, el llenado completo de los recipientes para evitar la existencia de aire en su interior, la elección de una adecuada temperatura de almacenamiento y la exposición de la muestra a la radiación ultravioleta para conseguir su esterilización.

La *preservación química* se utiliza generalmente para evitar los cambios en las concentraciones de los elementos traza y ultra-traza. Los métodos más importantes se basan en la adición de ácidos, sulfitos, disolventes, iones metálicos tóxicos, azidas, formaldehídos, etc. La acidificación de la muestra a pH próximo a dos previene la precipitación, la floculación y la complejación de algunos componentes y favorece la inhibición del crecimiento y de la actividad biológica de los microorganismos.

En la *preservación físico-química* se realiza la conservación física de extractos procedentes de la muestra original después de haberla sometido a diferentes procesos químicos de separación y/o preconcentración.

Dentro de cada uno de los tipos de conservación que se han explicado anteriormente se debe tener en cuenta además cuál es el parámetro que se quiere determinar. En este sentido, Gardolinski y col. (2001) recomendaron la determinación de nutrientes “in situ”, y realizaron la comparación de cinco métodos distintos de preservación de muestras de agua de diferente salinidad destinadas al análisis de nutrientes. Estos autores encontraron que la efectividad del método de almacenamiento elegido dependía del tipo de agua que se quería conservar, aunque en la mayoría de los casos resultaba más efectivo el congelado a -20°C , con o sin adición de preservativos químicos (cloroformo). Otros autores también han demostrado que las concentraciones de nutrientes en aguas oceánicas oligotróficas se mantienen adecuadamente durante varios meses si las muestras son congeladas inmediatamente a -20°C y almacenadas en recipientes de polietileno que se han limpiado previamente (Dore y col., 1996).

En el caso del análisis de elementos metálicos es recomendable realizar la conservación de las muestras mediante la adición de ácidos que mantengan su pH por debajo de dos. Entre los más utilizados están el ácido nítrico (Ahlers y col, 1990) y el clorhídrico (Bruland y col., 1979), aunque en algunos casos se utilizan otro tipo de compuestos. Por ejemplo, Bednar y col. (2002) encontraron que la adición de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) era más eficiente que los ácidos inorgánicos para evitar los cambios en la concentración de las distintas especies de arsénico inorgánico en muestras de aguas subterráneas. En el caso de la conservación de muestras de agua para el análisis de mercurio, Hall y col. (2002) comprobaron que la concentración de este elemento en muestras de agua era estable durante 28 días cuando se conservaba con BrCl al 0,5%, mientras que existía una pérdida cuando se utilizaba un medio al 2% de HCl o con un 0,04% de dicromatopotásico en ácido nítrico.

Separación y/o preconcentración

Debido a la baja concentración en la que se encuentran los metales traza en las aguas naturales, así como la complejidad de la matriz especialmente en muestras

salinas, en muchas ocasiones se hace preciso realizar un paso previo de separación y/o preconcentración.

Mediante la separación se intenta mejorar la selectividad del método al eliminar las interferencias producidas por la matriz y favorecer la determinación de los analitos en el nuevo medio en el que se encuentran. En las muestras líquidas esta separación se efectúa generalmente mediante extracciones líquido-líquido o por extracción sobre una fase sólida (Cámara y Pérez-Conde, 2002).

La extracción líquido-líquido se basa en la diferencia de solubilidad de un soluto entre dos fases líquidas inmiscibles. Generalmente las especies de interés se extraen desde el medio acuoso a un disolvente orgánico inmiscible de donde pueden ser posteriormente reextraídos hacia una fase acuosa de matriz simple, generalmente un ácido, que puede ser introducida sin problemas en el instrumento de análisis. En el caso de la extracción sobre fases sólidas la muestra se hace pasar a través de una columna donde se encuentra la fase sólida que suele ser un agente quelante o una resina de intercambio iónico, donde queda retenido el analito. Posteriormente se hace pasar un eluyente que vuelve a disolver el analito. Este eluyente constituye la nueva matriz donde se determinará el elemento. Este tipo de técnicas de separación suelen llevar asociadas la preconcentración, que generalmente se realiza partiendo de un volumen de muestra mayor que el volumen final sobre el que se realiza la reextracción. En la actualidad este tipo de extracciones con fase sólida presentan la ventaja de poder acoplarse a un sistema automático en línea. Estos sistemas permiten realizar de forma automática el paso de extracción sobre la fase sólida y posteriormente el paso del eluyente que una vez atraviesa la columna es introducido directamente en el equipo que va a realizar la determinación analítica. Este tipo de procedimientos automáticos permiten un considerable ahorro de tiempo y mejora la precisión del análisis al ser necesaria una menor manipulación de las muestras. El inconveniente es que previamente es necesario invertir un considerable esfuerzo y tiempo en conseguir un conocimiento exhaustivo del proceso que permita realizar su automatización (Dean, 1998).

De entre los numerosos ejemplos de preconcentración disponibles se pueden mencionar, a modo de ejemplo, algunos de los más recientes. Así, Todorovic y col. (2002) aplicaron el 4-morfolina ditiocarbamato como complejante de metales traza en aguas naturales y cloroformo para extraer los complejos formados. En el trabajo

compara distintos métodos para recuperar los metales del disolvente orgánico antes del análisis. Goswani y Singh (2002) han utilizado como matriz quelatante gel de sílice modificado con 3-aminopropiltriétoxosilano sobre el que se inmovilizó 1,8-dihidroxiantraquinona. Sobre esta matriz se retenían los metales de la muestra siendo posteriormente eluidos mediante ácido nítrico o clorhídrico. Así se preconcentraron, para su determinación, muestras de aguas (subterráneas, fluviales y potables) conteniendo cobre, hierro, cobalto y níquel. Okumura y col. (2002) aplicaron la extracción sobre fase sólida para determinar manganeso en muestras de aguas ambientales. La matriz sólida estaba formada por sílice y C-18 y el metal era estabilizado mediante la formación de un complejo con 4-(2-pyridylazo)resorcinol. Una vez el complejo quedaba retenido en la fase sólida era eluido con ácido clorhídrico. Jiann y Presley (2002) han llevado a cabo la extracción de aluminio, cadmio, cobalto, cobre, hierro, manganeso, níquel, plomo, vanadio y zinc en aguas de río mediante dos columnas de intercambio iónico en serie que permiten separar los metales de la fase disuelta de aquellos que se encuentran complejados con materia orgánica. A partir de un litro de muestra consiguen factores de preconcentración de 150 o superiores.

Alguno de los métodos más utilizados para realizar la preconcentración de metales en agua de mar se basan en el trabajo de Kinrade y Van Loon (1974), que demostraron que la combinación de los agentes quelantes 1-pirrodil ditiocarbamato de amonio (APDC) y dietilamonio dietilditiocarbamato (DDDC) resultaba muy útil para la llevar a cabo la extracción de varios metales (Cd, Co, Cu, Fe, Pb, Ni, Ag y Zn) en aguas naturales, presentando un método de extracción, previo a la determinación por absorción atómica de llama, simple, rápido y libre de las interferencias de muchos iones, consiguiendo una gran sensibilidad y precisión. A partir de este trabajo, Bruland y Franks (1979) y Danielsson y col. (1978) desarrollaron dos técnicas de preconcentración de metales traza para agua de mar. La diferencia entre ambas técnicas se basa principalmente en que en el primer caso los autores utilizaron como fase orgánica para la extracción el cloroformo y un tampón acético/acetato, mientras que en el segundo caso la fase orgánica elegida fue el freón y el tampón cítrico/citrato. Posteriormente el desarrollo y utilización de estas técnicas ha dado lugar a numerosos trabajos. Por citar algunos, Rivera-Duarte y Flegal (1996) utilizaron la extracción con cloroformo y el análisis posterior por espectroscopía atómica con horno de grafito

(GFAAS) para determinar las concentraciones de ocho metales (Cd, Co, Cu, Fe, Pb, Ni, Ag y Zn) en volúmenes reducidos (10 ml) de muestras de aguas intersticiales, y Sarthou y col. (1997) aplicaron esta metodología de extracción para la determinación del hierro disuelto en agua de mar. Por otro lado, Wang y Liu (2003) optaron por la extracción con freón para el análisis de metales disueltos (Fe, Zn, Cu, Cd, Co, Ni, Pb) en las aguas del estuario de Changjiang (China), con salinidades comprendidas entre 0,15 y 19, al igual que Lin y col. (1986) que determinaron Cu, Pb, Zn, Cd, Fe, Co y Ni en agua de mar consiguiendo límites de detección inferiores a $74 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ en todos los casos, llegando en la mayoría de ellos a valores por debajo de los $10 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$.

El problema que implica el uso de las técnicas de preconcentración es la necesidad de utilizar reactivos de alto grado de pureza para evitar la contaminación de las muestras. Este hecho encarece los análisis y hace que, en muchos casos, se requiera un tiempo de limpieza de estos reactivos, así como del material que se va a utilizar durante la preconcentración. Como se verá a continuación, son importantes los esfuerzos que los investigadores están realizando para poder hacer determinaciones de metales traza en aguas naturales que no requieran este paso de preconcentración, siendo éste un objetivo a conseguir.

Etapa de medida

Una vez realizados todos los pasos previos a la determinación analítica, será preciso disponer de técnicas que permitan cuantificar de forma fiable el contenido de metales traza en las muestras. Las técnicas analíticas más utilizadas en la determinación de metales traza en aguas naturales son (Salbu y Oughton, 1995):

1. Espectroscopía de absorción atómica con atomización electrotérmica (GFAAS).
2. Espectroscopía de emisión atómica con plasma acoplado por inducción (ICP-AES).
3. Espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción (ICP-MS).
4. Técnicas electroquímicas, principalmente la voltametría de redisolución anódica y catódica
5. Otras técnicas.

Cada una de estas técnicas tiene sus ventajas e inconvenientes cuando se aplican a la determinación de metales en aguas naturales, aunque el principal problema se presenta a la hora de realizar determinaciones directas en muestras salinas a las que no se les ha realizado un paso de separación o preconcentración previo. Este es el objetivo de muchas investigaciones actuales y a este respecto se han realizado multitud de mejoras en los equipos analíticos, ya que permitiría una mayor rapidez en el análisis y una menor manipulación de las muestras.

A continuación se detalla la dirección actual que sigue el desarrollo de estas técnicas de análisis instrumental para la determinación de metales traza en aguas naturales.

1. Espectroscopía de absorción atómica con atomización electrotérmica

Ésta es una de las técnicas analíticas más extendidas para el análisis de muestras de agua debido a su gran accesibilidad, sensibilidad, y al reducido volumen de muestra que precisa, aunque en la actualidad se está viendo progresivamente desplazada debido a la expansión del ICP-MS.

Se basa en la inyección de una pequeña cantidad de muestra, generalmente unos pocos μl , en el interior de un horno o tubo de grafito que es calentado eléctricamente generándose temperaturas de hasta 3000°C , que consiguen la atomización de la muestra. El horno debe ser calentado en tres o más pasos para atomizar adecuadamente la muestra que generalmente contemplan un secado de la muestra, su calcinación y posteriormente su atomización. Los átomos generados son excitados mediante la aplicación de una radiación con la longitud de onda a la que absorbe el elemento objeto de análisis. El detector mide la diferencia entre la radiación emitida antes y después de atravesar la muestra. Existen mejoras en la técnica que permiten aumentar su rendimiento, como el uso de una plataforma curva (plataforma de L'vov) en el interior del tubo donde se deposita la muestra o el calentamiento transversal en sustitución del longitudinal que ha sido utilizado clásicamente (Harris, 2001).

Aunque la sensibilidad de este método es suficiente en la mayoría de los casos para la medida directa de muestras de agua dulce acidificadas, no ocurre lo mismo para muestras salinas, ya que la complicada matriz que presentan genera una alta señal de fondo que en ocasiones oculta la señal originada por el analito. La técnica dispone de

sistemas de corrección de fondo para reducir el efecto de esta señal, como la lámpara de deuterio o el efecto Zeeman, siendo este último el que mejores resultados ha dado para muestras salinas. Aún así, en ocasiones es necesario para reducir el efecto matriz adicionar a la muestra sustancias conocidas como modificadores de matriz que disminuyen las pérdidas del analito al hacer más o menos volátil la matriz en comparación con el analito.

En algunos casos, la introducción de la muestra al horno se realiza tras su preconcentración. Es frecuente el uso de columnas tipo C-18, usadas para retener metales en forma de complejos formados con derivados de ditiocarbamatos, tipo APDC (Pirrolidinditiocarbamato de amonio) y DDDC (Dietilamonio dietilditiocarbamato). Posteriormente, una porción del eluido es inyectado en el tubo de grafito para su determinación (Colbert y col., 1998; Jin y col., 1999; Liu y Huang, 1995).

Pero a pesar de que las técnicas de preconcentración disminuyen notablemente los límites de detección para un buen número de metales, resulta más interesante el desarrollo de estrategias que permitan realizar medidas de agua de mar mediante la inyección directa de la muestra. De este modo se reduce el riesgo de contaminación y se ahorra tiempo, reactivos y muestra, ya que para poder realizar una buena preconcentración generalmente se parte de grandes volúmenes de muestra (250-500 mL) para obtener finalmente volúmenes muy pequeños (1-5 mL). Sin embargo, en la mayoría de los estudios de inyección directa de aguas salinas generalmente se adiciona también un modificador de matriz. Esta adición tiene como objetivo principal eliminar las interferencias debidas a la matriz de la muestra, con lo que se podría realizar las determinaciones basándose únicamente en la aplicación de una recta de calibración externa con patrones acuosos simples. Cuando no se utilizan este tipo de modificadores es imprescindible aplicar las adiciones estándar como método de cuantificación. Además, es en el análisis directo de agua de mar donde cobra mayor importancia la elección de los parámetros de operación del horno, es decir, el establecimiento de las condiciones a las que se realiza el secado, calcinación y atomización de la muestra.

Por otro lado, en la determinación de metales mediante horno de grafito pueden producirse pérdidas de sensibilidad debido a la formación de especies cloradas volátiles, las cuales se pierden en las distintas etapas de calentamiento. Este efecto es igualmente reducido mediante la correcta adición de modificadores de matriz.

Cabon y Lebihan (1995) determinaron cobre, manganeso y cromo en agua de mar mediante inyección directa con corrección Zeeman y compararon los resultados con los obtenidos utilizando distintos modificadores de matriz. Cuando se realizó la inyección directa de agua de mar sólo el cromo presentó resultados correctos. El manganeso no se estabilizó suficientemente a una temperatura de atomización de 1100°, la cual permitiría eliminar las interferencias de matriz sin producir pérdidas del analito. En el caso del cobre la interferencia debida a la matriz es tan grande que sólo se recuperó un 15% del elemento. Cuando se usó el ácido oxálico o el nítrico como modificadores de matriz se consiguió la estabilización de los tres elementos en sus formas oxidadas, aunque para altas concentraciones apareció distorsión en las señales. Los límites de detección conseguidos tras la aplicación de los modificadores fueron 0,042 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de cromo, 0,075 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de cobre y 0,026 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de manganeso.

Otro ejemplo de este tipo de determinación es el propuesto por Huang y col. (1995) para la determinación de molibdeno, cromo y manganeso en agua de mar mediante el uso de la atomización electrotérmica. El molibdeno pudo ser determinado sin la aplicación de modificadores de matriz aunque los límites de detección fueron menores con el uso de modificadores como el nitrato de magnesio, nitrato de paladio y ácido ascórbico. En el caso del cromo se obtuvieron mejores resultados utilizando cloruro de paladio como modificador, o bien una mezcla de éste con nitrato de magnesio o con cloruro de hidroxilamina. Finalmente, la determinación de manganeso fue más sensible con el uso de nitrato de magnesio como modificador, aunque en ese caso fue necesario usar un método de calibrado por adiciones estándar.

Existen otros ejemplos de estudios de inyección directa de agua de mar para el análisis de diversos elementos como zinc (Huang y Shih, 1995) o manganeso y cobre (Su y Huang, 1998). En general los límites de detección mejoraron con la utilización de modificadores de matriz.

Todos estos autores estudiaron el efecto de la variación de las temperaturas de calcinación y atomización sobre la señal de cada uno de los elementos. En alguno de los trabajos se indica que un paso de enfriamiento previo a la atomización permite una mejor precisión y menor condensación de la matriz en los extremos del tubo de grafito. Este hecho se debe a la formación de una amplia zona isotérmica generada en el instante

en que el tubo de grafito alcanza la temperatura de atomización (Su y Huang, 1998; Huang y col., 1995)

2. Espectroscopía de emisión atómica con plasma acoplado por inducción (ICP-AES)

Una de las ventajas de los plasmas acoplados por inducción es que consiguen eliminar gran parte de las interferencias que aparecen en las llamas de combustión gracias a su elevada temperatura, su estabilidad y su entorno químico de argón. Se usan casi exclusivamente en emisión gracias a que la temperatura es suficientemente alta, entre 6000 y 10000° K, para excitar la mayoría de los átomos.

La fuente de plasma se genera en una antorcha formada por tres tubos concéntricos de cuarzo a través de los cuales fluyen corrientes de argón con diferentes funciones. Alrededor de los extremos de dicha antorcha se sitúa una bobina de inducción enfriada por agua y conectada a un generador de radiofrecuencia. La ionización del argón se produce por una chispa de una bobina Tesla generándose de esta manera el plasma. Tras su estabilización la muestra, en forma líquida, es bombeada al interior de un nebulizador donde se convierte en un fino aerosol mediante un flujo de gas argón. Las gotas más finas del aerosol, aproximadamente un 1-2% del total, son separadas de las grandes mediante una cámara de expansión. Este aerosol es transportado a la antorcha por un inyector de muestra. En el plasma, los átomos son excitados a estados atómicos e iónicos, y emiten luz con una longitud de onda característica para cada elemento que es recogida por uno o más detectores ópticos.

El plasma generado en un ICP puede ser visto por el espectrofotómetro desde dos posiciones diferentes, bien desde un lado o bien desde el final de la antorcha. Estas posiciones se denominan radial y axial, respectivamente, y cada una de ellas tiene sus ventajas e inconvenientes. Por lo general la posición radial es la más utilizada para el análisis de rutina y el de materiales complejos, ya que genera pocos efectos de matriz e interferencias y necesita un menor mantenimiento de la antorcha y un menor gasto de gas argón. Por el contrario, la posición axial es utilizada para el análisis de matrices simples cuando se necesitan límites de detección muy bajos, ya que se consigue una mayor intensidad. Según Brenner y Zander (2000), la visión axial consigue que los límites de detección sean de dos a treinta veces mejores.

Además de la posición de la antorcha existen otros componentes del ICP-AES, como nebulizadores y cámaras de expansión, que permiten una gran variedad de diseños, y cada uno de los cuales presenta ventajas que los hacen útiles para un tipo de análisis particular. En la tabla II.1 se recogen algunos de los diseños más habituales de nebulizadores y el tipo de muestras para el que se utilizan.

Tabla II.1. Tipos de nebulizadores en ICP-AES y usos más habituales.

Tipo de nebulizador	Usos
Concéntrico o Meinhard	Uso general. Matrices con menos de 1% de sales.
Flujo paralelo o Burgener	Inerte. Matrices con alto contenido en sólidos disueltos (>30%)
Neumático JY	Residuos metálicos en aceites.
Flujo cruzado	Uso general.
Surco en “V”	Inerte. Matrices con alto contenido en sólidos disueltos.
Microconcéntrico	Para pequeños volúmenes de muestra.
Ultrasónico	Mejora los límites de detección. Análisis de orgánicos.
CMA	Mejora la determinación de haluros.

Algunos de los diseños que se presentan en la tabla han sido pensados especialmente para el análisis de matrices salinas, ya que este tipo de muestras presenta el inconveniente de producir depósitos de sales en los componentes del equipo que pueden ocasionar, por ejemplo, la obturación del nebulizador.

Por ejemplo, Conver y Koropchak (1995) encontraron que para muestras con bajos contenidos en sólidos disueltos el uso de nebulizadores ultrasónicos y “thermospray” mejoraban los límites de detección en comparación con la nebulización neumática. Cuando el contenido en sólidos disueltos era alto, la nebulización ultrasónica requería de una nueva optimización y los límites de detección empeoraban notablemente, mientras que con el nebulizador “thermospray” funcionaba en las mismas condiciones que para un bajo contenido en sólidos disueltos.

Aunque cada uno de los nebulizadores existentes presentan sus ventajas frente a determinados tipos de muestra, Desboeufs y col. (2003) encontraron que la nebulización ultrasónica resultaba más eficiente en la introducción de muestra, sensibilidad y

estabilidad que cuando se utilizaba un nebulizador tipo Meinhard para el análisis de aguas de origen atmosférico. Sin embargo, Brenner y Zander (2000) señalaron que los efectos de matriz aumentaban considerablemente cuando se usaba la nebulización ultrasónica. Por otro lado, los nebulizadores microconcéntricos han sido utilizados para la determinación de Ag, Al, As, Ba, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Sb, Sr, V y Zn en aguas residuales que contenían diferentes cantidades de sustancias orgánicas (Budic, 2000).

En el caso de las cámaras de expansión también existen varios diseños, como la ciclónica, la de Scott, la de bajo volumen, la inerte o la cámara fría, siendo las dos primeras las más extendidas. Todolí y col. (2000) compararon los tres primeros tipos cuando se utiliza poco caudal de muestra e introduciendo dicha muestra a través de un micronebulizador neumático experimental. Estos autores concluyeron que la cámara de expansión ciclónica conseguía una mayor tasa de transporte del analito y mayor sensibilidad, con menores límites de detección. Por otro lado, cuando el volumen de muestra es bajo conviene que los tiempos de limpieza y toma de muestra sean los mínimos, y en este sentido la cámara ciclónica y la ciclónica de bajo volumen dieron los mejores resultados. Otro trabajo similar es el realizado por Liu y col. (1998), en el que se compara un nuevo diseño de cámara de expansión en forma toroidal con la clásica de Scott. Con esta nueva cámara se conseguía una mayor eficiencia en la generación del aerosol y en el transporte, además de una presión interna más estable. Como resultado de estas mejoras se conseguía una mayor sensibilidad junto con una señal de fondo más baja, logrando una mayor precisión y mejores límites de detección.

Aunque ya se ha comentado que una buena parte de las mejoras técnicas que se han producido en los sistemas de introducción de muestras en ICP han sido orientadas a la posibilidad de realizar la determinación de diferentes elementos en agua de mar, aún son mayoría los trabajos en los que se realiza un paso previo de preconcentración y separación del analito de la matriz salina. Este paso previo se realiza, por lo general, mediante el uso de columnas que contienen resinas de intercambio iónico y que se acoplan en línea al equipo de ICP-AES. Entre los muchos trabajos que presentan este tipo de sistemas de preconcentración se puede citar el de Abbasse y col. (2002) para la determinación de vanadio en agua de mar, o bien el de Sohrin y col.(2001) en el que

presentaron un método de análisis multielemental (Co, Cu, Fe, Ni, Zn) aplicado al agua de mar.

Entre las ventajas que presenta la atomización con plasma frente a la electrotérmica está la menor interferencia entre los elementos gracias a sus temperaturas más elevadas. Además, debido al principio de la técnica, resulta muy útil para análisis multielemental, pudiéndose conseguir buenos espectros para la mayoría de los elementos a partir de unas mismas condiciones de excitación.

Por otro lado, las fuentes de plasma consiguen mejorar mucho su sensibilidad detectando los iones formados en el plasma mediante un espectrómetro de masas en lugar de hacer las medidas por emisión óptica (Skoog y Leary, 1994; Skoog, West y Holler, 1995; Harris, 2001). Aunque el elevado coste de este tipo de técnica hace que no se encuentre tan extendida como la atomización electrotérmica, sus ventajas frente a ésta han conseguido que actualmente sea una de las técnicas que mayor desarrollo ha experimentado en el campo del análisis ambiental.

3. Espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS)

Los sistemas de ICP-MS se comercializan por primera vez a principios de la década de los 80, y comienzan a extenderse con rapidez gracias a su capacidad de realizar determinaciones multielementales a nivel de ultratrazas. El principio de operación de la técnica es el mismo que en ICP-AES, y utiliza los mismos componentes relacionados con la introducción de muestras (nebulizadores, cámaras de expansión y antorchas), pero el hecho de acoplarse a un espectrómetro de masas implica ciertas diferencias de importancia.

En ICP-MS la antorcha se sitúa en posición axial y se utiliza para generar iones cargados positivamente. Una vez que los iones son producidos en el plasma, se conducen directamente al espectrómetro de masas a través de una región llamada interfase donde se mantiene un vacío de 1-2 torr. Esta interfase consiste en dos conos metálicos, el cono de muestra y el de extracción, los cuales poseen un pequeño orificio que permite el paso de los iones. Una vez que los iones atraviesan la interfase son dirigidos a una cámara de vacío por una serie de lentes electrostáticas, donde una bomba turbomolecular mantiene un vacío operativo de 10^{-6} torr. y cuya función es focalizar

electrostáticamente el haz de iones a través del mecanismo de separación de masas, a la vez que detiene el paso de partículas cargadas negativamente, fotones y otras especies neutras. Dependiendo del diseño del espectrómetro de masas la detección puede ser realizada de forma secuencial, o bien simultánea, y en ambos casos el detector convierte la cantidad de iones que le llegan en una señal eléctrica.

Actualmente existen distintos tipos de separadores de masas, pudiendo destacar los basados en cuadrupolos y los de sector magnético. Los primeros son los más extendidos, constituyendo prácticamente el 95% de todos los ICP-MS usados actualmente. Este tipo de detector está formado por cuatro cilindros de unos 8-12 cm de longitud y 1 cm de diámetro. Mediante la aplicación de una corriente eléctrica a un par de cilindros y un campo de radiofrecuencia al otro par se consigue que los iones de una determinada masa pasen a través del cuadrupolo, mientras que las otras masas son rechazadas. Este proceso se repite después para otra de las masas y así sucesivamente.

Por poner un ejemplo, este tipo de analizador ha sido el utilizado por Volpe y col (2001) para la determinación de Al, Mn, Ni, Cu, Zn, Mo, Ba y U en agua de mar, con la particularidad de que las determinaciones eran realizadas a bordo de una embarcación e inyectando la muestra mediante un sistema en flujo de modo que se conseguían medidas en tiempo real.

En el caso de los detectores de sector magnético, la instrumentación actual utiliza la geometría reversa de Nier-Johnson, consistente en dos analizadores, uno electromagnético y otro electrostático. Los iones son muestreados de forma convencional y acelerados en la región de la óptica antes de entrar en el analizador electromagnético. El campo magnético, que es dispersivo respecto a la masa y la energía del ión focaliza todos los iones con ángulos divergentes de movimiento desde la rendija de entrada a la intermedia. El separador electrostático, es sólo dispersivo respecto a la energía del ión y focaliza los iones desde la rendija intermedia a la de salida. Cambiando el campo eléctrico de dirección durante el ciclo de tiempo del magnético resulta en un efecto de congelación para la masa de interés. El voltaje se varía de forma controlada de modo que sólo se escanean los picos de las masas de interés y no todo el espectro. La desventaja de este tipo de separador frente a los de cuadrupolo es que son mucho más lentos, pero su ventaja consiste en un mayor poder de resolución, de veinticinco veces más que el del cuadrupolo.

Los analizadores de sector magnético se han utilizado con éxito en la determinación de elementos metálicos en diferentes tipos de aguas. Riondato y col. (2000) utilizaron este tipo de analizador para determinar V, Cr, Ag, Cd, As y Se en aguas minerales consiguiendo límites de detección por debajo de $60 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$, para todos los elementos, alcanzando en el caso de la Ag y el V valores de $0,3$ y $0,4 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$, respectivamente. Estos autores también determinan Al, Mg, Ca, Mn, y Fe en aguas subterráneas candidatas a ser material de referencia, consiguiendo en todos los casos concentraciones significativamente iguales al valor aceptado para la certificación. Ndung'u y col. (2003) utilizaron este tipo de detector para determinar Mn, Cd, Pb, Co, Ni, Cu y Zn en aguas estuáricas, pero con un paso previo a través de una resina quelatante.

Actualmente se está utilizando un nuevo sistema de separación de masas denominado celda de colisión que permite mejorar los límites de detección de determinados elementos que poseen interferencias poliatómicas, fundamentalmente relacionadas con el argón. Aunque el uso del plasma frío, que se genera a menor temperatura, disminuye en ocasiones la formación de este tipo de interferencias, es una técnica complicada de optimizar y no resulta del todo efectiva para algunas de las interferencias. Por ello el uso de la celda de colisión se encuentra cada vez más extendido. Este sistema se desarrolla a finales de los años 90, y se basa en la extracción de los iones que atraviesan la interfase a un multipolo (generalmente hexapolo u octapolo), operando sólo en modo de radiofrecuencia, que se encuentra en vacío, y donde se introduce un gas como H_2 o He. El multipolo no separa las masas, pero las focaliza a la celda donde colisionan con moléculas de la celda de forma que las especies moleculares interferentes son rotas y se convierten en otras especies que no interfieren. Una vez eliminadas las interferencias, los iones salen de la celda hacia un cuadrupolo para la separación de masas. Una variación de las celdas de colisión lo constituyen las llamadas celdas de reacción, en las que el gas reactivo es NH_3 , O_2 o CH_4 , y sirve de catalizador de las reacciones que tienen lugar en la celda. El mecanismo se basa además de en las colisiones ya descritas, la generación de reacciones entre las distintas especies que entran en el multipolo, pero requiere de una cuidadosa optimización de los campos eléctricos para evitar la generación de nuevas interferencias.

Un ICP-MS con una celda de reacción/colisión con octopolo fue utilizado por Leonhard y col. (2002) para determinar V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Mo, Cd, Pb y U en una muestra diluida de agua de mar certificada, consiguiendo diferencias respecto del valor certificado inferiores al 20%.

Es interesante destacar el trabajo realizado por Louie y col. (2002) en el que además de utilizar una celda de colisión con gas NH_3 para determinar Cr, Cu, Mn, Ni y V en agua de mar certificada, realizan la comparación de estos resultados con los obtenidos al utilizar un separador cuadrupolo convencional y un ICP-MS de sector magnético. Estos autores indican que al utilizar el separador cuadrupolo convencional se obtienen concentraciones por encima de las certificadas, atribuyendo esta sobreestimación a la existencia de interferencias espectrales. Por otro lado, los resultados obtenidos con la celda de colisión y el sector magnético fueron muy parecidos para el V, Cr y Mn, no difiriendo significativamente de los valores certificados. Sin embargo, para el Cu y el Ni no se consiguió la eliminación total de las interferencias, aunque fueron reducidas significativamente.

Como ya se ha comentado anteriormente, la técnica de ICP-MS se extiende con rapidez gracias a su capacidad de detección multielemental y los bajos límites de detección que se pueden conseguir. El principal problema que presenta la técnica se debe a las interferencias espectrales que se generan por la aparición de moléculas asociadas al gas usado en el plasma y en el nebulizador. Por ejemplo, en los plasmas de argón el ^{40}Ar interfiere con el ^{40}Ca , y la combinación del ^{40}Ar con el ^{16}O interfiere con el ^{56}Fe . Por otro lado, existen otro tipo de interferencias relacionadas con la matriz, generándose una supresión física de la señal del analito causada por el impacto de la muestra sobre la formación de las gotas en el nebulizador o la selección del tamaño de gota en la cámara de expansión. En el caso de las matrices orgánicas esto es causado por la diferente viscosidad de los disolventes al ser aspirado. En el caso de matrices con alto contenido en sólidos disueltos, se puede generar depósitos sólidos que pueden obstruir el nebulizador o los orificios de la interfase de modo que se produce una disminución en la señal del analito relacionada con una disminución en la entrada de muestra. Aunque las mejoras técnicas realizadas en los equipos de ICP-MS (plasma frío, celda de colisión,...) han conseguido reducir gran parte de las interferencias espectrales existentes, la supresión de la señal ocasionada por la matriz de la muestra debe ser

corregida mediante la utilización de patrones internos. Esta técnica se basa en la introducción de uno o varios elementos que se introducen en las muestras y patrones para corregir cualquier variación en la señal debida a la matriz. Cuando la intensidad de los estándares internos cambia, la respuesta de los elementos es actualizada en el momento del análisis. Los elementos utilizados como estándares internos deben cumplir una serie de requisitos como no estar presentes en las muestras, no interferir espectralmente con la masa del analito, tener un potencial de ionización similar al del analito y utilizarlo para un grupo de analitos dentro de un rango de masas similar. Algunos de los patrones internos más comunes son: ^9Be , ^{45}Sc , ^{59}Co , ^{74}Ge , ^{89}Y , ^{103}Rh , ^{115}In , ^{169}Tm , ^{175}Lu , ^{187}Re y ^{232}Th (Thomas, 2002).

Un claro ejemplo de cómo disminuye la señal del analito debido a problemas de matriz lo representa el trabajo de Fernández-Turiel y col. (2000). Estos autores indican una disminución en las intensidades absolutas de un 30-40% tras seis horas de análisis, aunque el uso de In como patrón interno consiguió corregir estas variaciones, como puede observarse de los resultados obtenidos al analizar un agua de mar de referencia. También Falk y col. (1997) encontraron una disminución de la señal del analito de un 5-10% después de 12 h de análisis cuando no usaban patrón interno, mientras que con el uso del patrón conseguían reducir ese porcentaje a un 2-5%. Además, estos autores muestran que es posible la determinación directa de agua de $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de NaCl teniendo especial cuidado con los parámetros instrumentales, y utilizando un adaptador de gas adicional de flujo laminar, unos conos en la interfase con una configuración especial que admite muestras con mayor contenido en sólidos disueltos y una antorcha parcialmente desmontable.

Otros autores, como Field y Sherrel (2003) utilizaron, además de patrón interno, un sistema de desolvatación microconcéntrico que tolera mejor los sólidos disueltos, y conos de aluminio en la interfase para reducir el contenido de níquel de los blancos. O bien, para conseguir una eliminación completa de la matriz antes de su paso por el plasma se puede utilizar una resina de intercambio iónico en línea con el ICP-MS, como es el caso del trabajo de Yang y Sturgeon (2002) para determinar plata en agua de mar y sedimentos, o el de Willie y col. (2001) para la determinación de Ca, Na y Mg en agua de mar.

4. Técnicas electroquímicas como la voltametría de redisolución anódica y catódica

La voltametría engloba a un conjunto de técnicas electroanalíticas basadas en la relación que existe entre corriente y voltaje en un proceso electroquímico. En la voltametría tradicional se utiliza un electrodo sobre el que se aplica una diferencia de potencial variable de modo que cada especie química de interés en la disolución a analizar será oxidada a un determinado valor de potencial en el caso de que el electrodo funcione como ánodo, o bien será reducida en el caso de que al electrodo funcione como cátodo.

Aunque existen diferentes tipos de voltametría, una de las más utilizadas para el análisis de metales en agua de mar es la de redisolución, que puede ser anódica o catódica. En el análisis de redisolución el analito se concentra primero por electrodeposición sobre un microelectrodo formado por una gota de mercurio, y la especie electroactiva se redisuelve a continuación al aplicar un barrido de voltaje en sentido inverso. Dependiendo del carácter reductor u oxidante del microelectrodo durante la etapa de redisolución se habla de redisolución catódica o anódica. En los métodos de redisolución anódica el microelectrodo se comporta como un cátodo durante la etapa de deposición y como un ánodo durante la etapa de redisolución, mientras que en la voltametría de redisolución catódica ocurre lo contrario (Skoog y Leary, 1994). La corriente medida durante la etapa de redisolución corresponde a la cantidad de analito que se había depositado inicialmente.

La redisolución es la técnica polarográfica más sensible, ya que el analito se concentra a partir de una disolución diluida y cuanto más dura el periodo de concentración más sensible es el análisis. Pero hay que tener en cuenta que sólo se deposita una fracción de analito, por lo que en un análisis el depósito debe hacerse siempre durante el mismo tiempo (Harris, 2001).

Como se puede observar en los ejemplos que se presentan a continuación, ambos tipos de voltametría han sido aplicados al análisis de agua de mar, pero es más habitual la utilización de la voltametría de redisolución anódica y fundamentalmente para zinc, plomo, cobre y cadmio. Dentro de esta última puede citarse el estudio de Riso y col. (1997) que determinan simultáneamente cobre, cadmio, y plomo en aguas oceánicas. Los límites de detección obtenidos después de una electrólisis de 15 min fueron 44

ng·L⁻¹ para cobre, 3 ng·L⁻¹ para el plomo y 1 ng·L⁻¹ para el cadmio. Por su parte, Truzzi y col. (2002) optimizaron un método para determinar estos mismos elementos en agua de mar mediante voltametría de redisolución anódica consiguiendo cuantificar muestras con 13 ng·L⁻¹ de cadmio, 30 ng·L⁻¹ de plomo y 200 ng·L⁻¹ de cobre con un tiempo de deposición de cinco minutos. Quentel y Fililla (2002) realizan la determinación de las distintas especies de antimonio en agua de mar utilizando voltametría de redisolución anódica sin necesidad de eliminar la materia orgánica previamente. El límite de detección que consiguen con este método es de 11 ng·L⁻¹ tras diez minutos de deposición.

Como ejemplo del uso de la voltametría de redisolución catódica para la determinación de metales puede citarse el trabajo realizado por Ensafi y col. (2004), en el cual se determinaron concentraciones de cadmio y zinc en muestras de referencia y reales de aguas y aleaciones, consiguiendo límites de detección de 1,7 ng·mL⁻¹ y 1,8 ng·mL⁻¹ respectivamente, mediante el uso de un agente complejante (naranja de xilenol). Otro ejemplo, en este caso para la determinación de Mn, Fe y S en aguas intersticiales lo constituye el trabajo de Paux y col. (2003), o el de Ensafi y Abbasi (2000) para determinar cobre en aguas de río y sales comerciales mediante la reducción del complejo cobre-alfa-benzilmonoxina sobre un electrodo de gota de mercurio, consiguiendo límites de detección de 0,3 ng·mL⁻¹.

La adición de un ligando específico a la muestra, de modo que se forme un complejo adsorptivo con el elemento objeto de estudio, consigue mejorar las técnicas de voltametría. La ventaja es que se consiguen mayores preconcentraciones en tiempos más reducidos, permitiendo medidas rápidas y extremadamente sensibles. Con esta técnica, además es posible realizar determinaciones de elementos que no podían cuantificarse mediante las técnicas voltamétricas convencionales (Achterberg y Braundgardt, 1999). Así, Jugade y Joshi (2003) han utilizado como ligando el 1-nitroso-naftol para determinar cobalto y níquel en aguas con esta técnica, consiguiendo límites de detección de 0,2 mg·L⁻¹, y Zayats y col. (2002) proponen un método para determinar plomo en aguas naturales utilizando como ligando el ácido 2,2-dipiridil-2,4-dioxibenzoico. Girousi y col. (1999) consiguen un límite de detección de 1,6 µg·L⁻¹ para el vanadio por medio de la formación de un complejo con 1,10-fenantrolina y su determinación con voltametría de redisolución catódica.

5. Otras técnicas

Aunque las técnicas analíticas citadas anteriormente son las más extendidas para la determinación de metales en aguas naturales, no son las únicas que han sido utilizadas. Otros métodos que se han usado en estas determinaciones son aquellos basados en la activación de neutrones y la espectroscopía de absorción atómica con llama, aunque sus desventajas son ampliamente reconocidas.

Los métodos de activación de neutrones se basan en la medida de la radioactividad que ha sido inducida en las muestras por irradiación con neutrones o partículas cargadas, tales como los iones hidrógeno, deuterio o helio. Esta técnica instrumental ofrece una gran sensibilidad para la determinación simultánea de un gran número de elementos. Los bajos límites de detección que se obtiene han hecho que sea ampliamente utilizada durante mucho tiempo, pero presenta importantes inconvenientes como el elevado coste, la necesidad de personal cualificado y los especiales requerimientos de manipulación y almacenamiento de materiales radiactivos. Estas desventajas junto con la mejoras que han sido desarrolladas para técnicas más simples y baratas, como la atomización electrotrémica, ha hecho que su uso está cada vez menos extendido (Salbu y Oughton, 1995; Skoog y Leary, 1994).

Por otro lado, el problema que plantea la espectroscopía de absorción atómica con llama es que sus límites de detección no son lo suficientemente bajos para poder aplicarse a muestras de aguas naturales sin preconcentrar. El hecho de que sea una técnica relativamente sencilla, barata y cuyo uso está ampliamente extendido, hace interesante su aplicación para muestras de aguas naturales a pesar de sus inconvenientes, tal y como se verá más adelante en la parte experimental de este trabajo. Otro ejemplo de este tipo de aplicaciones es el estudio de Tokalioglu y Kartal (2002), en el que utilizan esta técnica para determinar cromo, níquel, cobre, cadmio y plomo en aguas de lago, aunque después de realizar una preconcentración usando una columna con una resina.

Una vez se han expuesto los trabajos más relevantes sobre las diferentes etapas que constituyen el proceso analítico, a continuación se expone el desarrollo metodológico seguido en el presente trabajo. En dicha exposición se trata de explicar detalladamente cuál ha sido la metodología a seguir y porqué se ha utilizado dicha

metodología y no otra. Para ello se explican una serie de estudios preliminares que han sido realizados para comprobar la validez de los métodos de toma de muestra, preparación de las mismas y determinación analítica de los parámetros objeto de estudio.

ESTUDIOS PRELIMINARES

Toma de muestra

1. Variables objeto de estudio

La metodología utilizada durante la toma de muestras ha estado determinada principalmente por las variables que se querían analizar, por la zona a muestrear y por el objetivo de este estudio. Las concentraciones de los elementos que fueron analizados en este trabajo se refieren a la fase disuelta, lo cual determinó de forma importante la metodología de muestreo utilizada.

Por otro lado, como se ha mostrado anteriormente, los estudios enfocados a la caracterización de las aguas de un río y su relación con las actividades humanas se basan en la determinación de nutrientes y metales traza, así como en las características físico-químicas de las aguas objeto de estudio. Por esta razón, las variables seleccionadas en este estudio fueron:

a. Físico-químicas

Es bien sabido que muchas de las reacciones que ocurren en el medio acuático están determinadas por los valores de diferentes variables físico-químicas como la temperatura o el oxígeno disuelto. Este último, por ejemplo, puede influir notablemente en la forma en la que se presentan determinados elementos como los compuestos nitrogenados, que abundan en forma de nitratos cuando el oxígeno disuelto se encuentra en altas concentraciones.

Otro ejemplo lo representa el contenido de sólidos en suspensión, ya que entre éstos y la fase disuelta existen numerosos procesos de adsorción/desorción que se encuentran ligados a otros parámetros físico-químicos como la salinidad, el pH o la temperatura. Por otro lado, las escorrentías agrícolas producen un aumento en el

contenido de sólidos en suspensión en los cursos de agua que alcanzan, pudiendo utilizar este parámetro como un indicador de la influencia que la agricultura ejerce sobre la calidad de las aguas del río.

Además, una variación brusca en estos parámetros puede indicar la entrada de un tipo de agua con características distintas a las de la corriente receptora, señalando por ejemplo la entrada de efluentes de aguas residuales urbanas o industriales. Un ejemplo representativo podría ser el del vertido de aguas destinadas a la refrigeración en sistemas industriales, que generalmente producen un aumento de temperatura en las aguas receptoras. Este aumento puede ocasionar cambios en la biota de la zona, así como modificar las interacciones entre las fases disueltas y particulada al favorecer la existencia de nuevas reacciones en detrimento de otras.

Así pues, la caracterización físico-química de las aguas permite tener una idea de los posibles procesos e interacciones que tienen lugar entre los elementos considerados y constituye una primera aproximación a las aguas objeto de estudio. Por ello, en el presente trabajo se han realizado determinaciones de temperatura, salinidad, pH, oxígeno disuelto y sólidos en suspensión.

b. Nutrientes

Como se ha mostrado en multitud de ejemplos presentados en la introducción del presente trabajo, la determinación de nutrientes en las aguas es muy útil para identificar y separar posibles fuentes de contaminación antropogénicas. En base a este hecho, en este trabajo se realizaron determinaciones de nitratos, nitritos, amonio y fosfatos.

Tal y como se comentó en la introducción del presente trabajo, los nitratos son indicadores de fuentes de origen agrícola (O'Neill, 1998; Michel y col., 2000; Moreau y col., 1998; Arienzo y col., 2001), mientras que el amonio se encuentra más relacionado con las aguas residuales urbanas (Balls y col., 1996; Neal y col., 2000b; Muller y col., 1994) y los fosfatos pueden estar más o menos influenciados por la agricultura (Withers y Lord, 2002) o las aguas residuales (Neal y col., 2000b; Moreau y col., 1998). Por otro lado, la concentración de nitritos permite establecer las relaciones existentes entre los otros compuestos nitrogenados, ya que este

elemento sólo existe como un intermedio de reacciones de nitrificación o desnitrificación.

c. Metales traza

Para completar la caracterización de las aguas del río Guadalquivir y establecer la relación existente entre su calidad y la existencia de diferentes actividades antropogénicas en las márgenes del río se determinó la concentración de diferentes metales en sus aguas, teniendo en cuenta la información que puede ofrecer cada uno de ellos. Los metales determinados son cobre, zinc, cobalto, plomo, manganeso, níquel, y cadmio, y aunque en muchas ocasiones este tipo de contaminantes se relacionan con fuentes de origen industrial (Zhang, 2002; Robson y Neal, 1997a; Elbazi-Poulichet y col., 1999) o minero (Farmer y Graham, 1999; Schell, 1996), existen otro tipo de actividades que pueden influir notablemente en su concentración.

En este sentido, las actividades agrícolas requieren el uso de fertilizantes que contienen metales en su formulación, especialmente cobre, cadmio o plomo (O'Neill, 1998; Linde y col., 1995). También las aguas residuales contienen cantidades considerables de algunos metales como níquel, zinc, manganeso, plomo, cobre o cadmio, de los cuales níquel y manganeso permanecen presentes en concentraciones altas en los efluentes tratados (Karvelas y col., 2003).

2. Metodología de muestreo

Debido a las características propias de la zona de estudio, para realizar la toma de muestras fue necesario el uso de embarcaciones que permitieran el acceso a todas las estaciones de muestreo. Se utilizaron dos embarcaciones, ambas cedidas por la Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía. Una de ellas, el AMA Quinto que se muestra en la fotografía, se utilizó principalmente para la toma de muestras en la zona fluvial y otra de mayor eslora, el AMA Sexto, se utilizó en la zona estuárica.



Teniendo en cuenta que uno de los objetivos del presente trabajo es la minimización de la contaminación desde el muestreo hasta la determinación analítica, se prestó gran atención a la realización de la toma de muestras en las condiciones de mayor limpieza y evitando en lo posible la manipulación de las mismas. Por este motivo, la toma se llevó a cabo, siempre que el tiempo lo permitía, desde la proa del barco para mantener el equipo lo más alejado posible de los gases de combustión de los motores. Por el mismo motivo se requirió la colaboración de los patrones de los barcos para que mantuvieran la embarcación contra el viento, de modo que los gases fueran arrastrados en la dirección contraria a la de realización de la toma de muestras.

Uno de los problemas que se presentan cuando se analizan elementos disueltos se encuentra en la necesidad de realizar una filtración de las muestras. Habitualmente dicha filtración se realiza con posterioridad a la toma de muestras, y suele consistir en hacer pasar el agua a través de un filtro de celulosa con tamaño de poro de $0,45\mu\text{m}$ (Cámara y Pérez-Conde, 2002). El uso de esta técnica implica un riesgo de contaminación alto al entrar la muestra en contacto con el material de filtración. Por este motivo, en este trabajo se realizó la filtración “in situ” de las muestras mediante un sistema consistente en un tubo de teflón acoplado a un cartucho de filtración, a través del cual pasa el agua directamente desde el punto de toma hasta el recipiente recolector,

impulsada por una bomba peristáltica. El problema que se presenta al utilizar los filtros planos convencionales es la rapidez con la que estos se saturan, lo que requiere su continua sustitución, con el inconveniente de aumentar el tiempo requerido para realizar el muestreo, anulando además el efecto de minimizar la manipulación de las muestras. Por esta razón, en estos casos se realiza la filtración simultánea a la toma de muestras mediante un cartucho de filtración consistente en una cápsula cerrada en cuyo interior se encuentra un filtro de tamaño de poro 0,45 μm replegado varias veces sobre sí mismo de modo que presenta una alta superficie para filtrar, lo que ralentiza la saturación del mismo.

Dependiendo del tipo de análisis a realizar, los recipientes colectores deben tener unas características distintas y se someten, como se explicará en el próximo apartado, a distintos protocolos de limpieza. Este hecho determinó la secuencia de la recogida de muestras así como la metodología empleada. Uno de los objetivos prioritarios en el barco debe ser mantener el material de muestreo lo más resguardado posible y alejado de cualquier posible fuente de contaminación. Para ello todo el material debe mantenerse en el interior de dos bolsas y dentro de neveras cerradas. En cada estación de muestreo se toma únicamente el material necesario, que se mantiene durante toda la toma dentro de la bolsa interior.

Durante el muestreo se requiere la participación de tres personas, siendo una de ellas la encargada de mantener el tubo de teflón en el interior del agua manteniendo la posición del mismo en cuanto a profundidad, distancia a la embarcación, etc. Para facilitar esta tarea el tubo de teflón era fijado a una pértiga rígida extensible. Las otras dos personas son las encargadas de la manipulación de las muestras, y suelen denominarse como “manos sucias” y “manos limpias”. La primera de ellas realiza todas aquellas tareas que conllevan o pueden conllevar contacto con otro material distinto del material sometido a procesos de limpieza. Así, por ejemplo, es el encargado de sostener el extremo de salida del agua, facilitar a la persona que actúa de “manos limpias” el material a utilizar en cada momento, siempre por la bolsa de plástico más externa, realizar las operaciones de encendido y apagado de la bomba peristáltica, etc. La segunda persona, o “manos limpias”, debe mantener contacto únicamente con el material limpio usado en la toma, cumpliendo siempre los protocolos que se describen a continuación.

En la siguiente fotografía se observa de derecha a izquierda: manos sucias, manos limpias y encargado de introducir el tubo de toma de muestras en el agua.



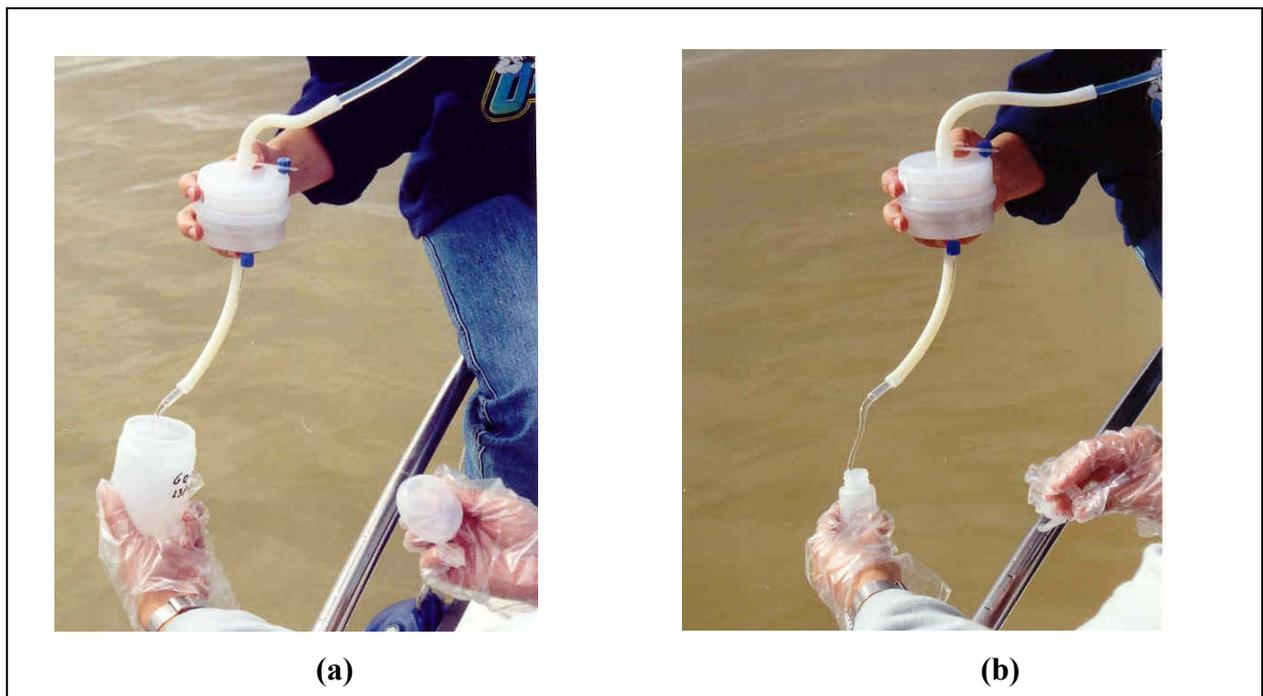
MUESTRA I. Sólidos en suspensión y variables físico-químicas

En primer lugar, para realizar la determinación de los sólidos en suspensión se toman dos muestras de unos 250 mL de agua sin filtrar en recipientes de plástico limpios con la intención de realizar el análisis por duplicado. Estos recipientes son enjuagados 3 veces con agua de la estación a muestrear por la persona que actúa de manos sucias antes de realizar la recogida de agua para el análisis.

De igual modo se toma una muestra de unos 50-100 mL de agua para realizar las medidas “in situ” de los parámetros físico-químicos: T^a , conductividad (salinidad), pH y oxígeno disuelto.

MUESTRA II. Nutrientes

En este punto, mediante el uso de guantes de polietileno desechables, la persona “manos limpias” procede a la conexión del cartucho de filtración con la ayuda de la persona “manos sucias”. Una vez que el filtro está colocado en línea con el tubo colector se hace pasar agua a través de él para evitar contaminación debida a restos de aguas de la estación de muestreo anterior o bien para eliminar los restos de ácido si era la primera vez que ese filtro va a ser usado. A continuación la persona que actúa de “manos limpias”, todavía con los guantes puestos, toma los botes destinados a recoger el agua para el análisis de nutrientes, tal y como se muestra en la fotografía (a). Antes de tomar la muestra, el frasco y su tapón se enjuagan cinco veces con agua del mismo punto. En este caso se recogen dos botes de 250 mL cada uno para realizar los análisis por duplicado. Una vez que las muestras son recogidas se congelan inmediatamente en el congelador de la embarcación, evitando de esta forma la adición de conservantes biocidas.



MUESTRA III. Metales mayoritarios

Una vez realizada la toma de agua destinada al análisis de nutrientes se procede a recoger agua para el análisis de los metales pesados mayoritarios, entendiendo éstos como aquéllos que aparecen en concentraciones moderadamente altas, como hierro, manganeso o aluminio. Para ello se utiliza un bote de 30 mL de polietileno de baja densidad (LDPE), que se puede ver en la anterior fotografía (b), previamente sometido a procesos de limpieza y guardado en dos bolsas cerradas herméticamente, una en el interior de la otra. El hecho de utilizar dos bolsas para el almacenamiento de las muestras consigue evitar que la bolsa interior entre en contacto con alguna de las superficies del laboratorio o del barco manteniendo la botella y la muestra lo más lejos posible de cualquier fuente de contaminación. Ambas bolsas son abiertas por la persona “manos sucias”, tomando el bote finalmente la “manos limpias”. Antes de la toma, el bote también se enjuaga cinco veces, y una vez que se llena con el agua se guarda en el interior de uno de los guantes utilizados, y en su correspondiente bolsa, evitando así el contacto con cualquier posible fuente de contaminación.

MUESTRA IV. Metales minoritarios

Por último se procede a tomar agua para la determinación de metales traza. Para ello deben extremarse las precauciones de limpieza. En este caso se utilizaron botellas de 500 mL de LDPE, previamente sometidas a procesos de ultralimpieza, almacenados de forma individual en el interior de una bolsa hermética que a su vez estaba dentro de otra bolsa. La persona “manos limpias” utiliza en este caso dos pares de guantes nuevos, mientras que la persona “manos sucias” abre las bolsas de plástico que contienen las botellas, utilizando un par de guantes. Estas botellas, y sus correspondientes tapones, también son enjuagadas cinco veces, y una vez recogida la muestra son devueltas a sus bolsas que se cierran inmediatamente. En este caso se realiza la toma de un volumen mayor de agua (unos 500 mL) previendo la posible necesidad de realizar algún paso de preconcentración anterior al análisis.

El hecho de tomar de forma separada muestras para el análisis de los metales mayoritarios y minoritarios se debe a la distinta metodología que se utilizará en su posterior análisis. Mientras que los minoritarios deben ser sometidos a

preconcentración, preferentemente en condiciones limpias, los mayoritarios pueden ser analizados, en general, mediante diversas técnicas analíticas.

En todos los casos la secuencia descrita fue seguida durante los muestreos. Como se puede observar, se comienza con las muestras que requieren un menor grado de limpieza y se termina con aquellas en las que las técnicas limpias son fundamentales para obtener resultados exactos. De este modo se asegura además que el material utilizado para la toma (tubos, filtro, etc...) no se encuentre contaminado por restos de ácidos de la limpieza o bien por agua procedente de la estación de muestreo anterior.

Cabe destacar que para garantizar la corrección del muestreo, resulta esencial mantener la disciplina y la atención durante todas las etapas que lo forman. Esta afirmación es extensible a los trabajos de preparación del material utilizado en los muestreos, basados en la aplicación de protocolos de limpieza, los cuales se describen a continuación.

Protocolos de limpieza

Si se tiene en cuenta que durante el muestreo se realiza una separación de diferentes muestras, según las técnicas a utilizar y los parámetros a analizar, resulta evidente pensar que la limpieza del material debe realizarse de acuerdo con los mismos criterios. Obviamente no se precisa el mismo grado de limpieza cuando se realizan determinaciones de sólidos en suspensión que cuando se quieren determinar metales traza. Por este motivo la limpieza a la que se somete el material es diferente dependiendo del uso que éste va a tener.

El material a limpiar son los tubos usados en la toma de muestras, los cartuchos de filtración, los distintos tipos de botellas destinadas a recoger y almacenar las muestras y todo el material de laboratorio que iba a ser utilizado durante la preparación de las muestras previa al análisis y durante el mismo.

1. Tubos para conducciones

Para realizar la toma de muestras se utilizan dos tipos de tubo. Por un lado, tubo de teflón rígido, con el cual se forman la práctica totalidad de las conducciones. La rigidez de este tubo hace difícil su utilización tanto en conexiones como en el cabezal de la bomba peristáltica, por lo que se usan porciones de un segundo tipo de tubo de C-

flex, que por su flexibilidad permite dichas funciones. El material de ambos tubos fue elegido teniendo en cuenta su baja capacidad de adsorción y su resistencia a los ácidos debido al tipo de limpieza a la que iban a ser sometidos.

Para limpiar el tubo de teflón, éste se divide en porciones de 3 m, cada una de las cuales se llena mediante la bomba peristáltica con ácido clorhídrico 3M por un periodo no inferior a seis semanas, manteniéndose así hasta el momento de la toma de muestras. Para retener el ácido en el interior del tubo se unen los dos extremos con un pequeño trozo de tubo C-Flex. El tubo lleno de ácido se guarda en una doble bolsa opaca, para preservarlo de posibles fuentes de contaminación, hasta el momento de la toma de muestras.

Para realizar la limpieza del tubo C-Flex, éste se divide en porciones de 30 cm de longitud que se mantienen dentro de un baño de ácido clorhídrico 3 M durante una semana. Después de este tiempo se enjuagan con agua milli-Q dentro de una campana de flujo laminar. Una vez enjuagados se guardan en bolsas con cierre hermético, que a su vez se almacenan en una bolsa opaca. Estos tubos permanecen de este modo hasta la realización de la toma de muestras.

2. Cartuchos de filtración

La limpieza de los cartuchos de filtración requiere un periodo de tiempo de unos diez días, y se lleva a cabo mediante la realización de diversas etapas, esquematizadas en la figura II.1. En primer lugar los cartuchos se llenan con metanol mediante la bomba peristáltica y se mantienen con el metanol durante 24 horas. Después de este tiempo se vacían y se hace pasar agua milli-Q para limpiar los restos de metanol que hayan podido quedar en el interior de los cartuchos. Se llenan con el agua milli-Q y se mantienen así durante otras 24 horas. Después se llenan de ácido clorhídrico 0,5 M durante una semana, enjuagándose posteriormente con agua milli-Q para eliminar los restos de ácido. Es importante eliminar completamente el ácido clorhídrico del interior de los cartuchos, pues en el siguiente paso se utilizará ácido nítrico, y de existir mezcla de ambos ácidos puede ocurrir la degradación del filtro. Tras dejar los cartuchos con agua milli-Q durante 24 horas se llenan con ácido nítrico 0,5 M, manteniéndose llenos de este ácido dentro de bolsas con cierre hermético que a su vez se guardan en el interior de una doble bolsa opaca hasta la toma de muestra. Los ácidos utilizados en esta limpieza

pueden ser reutilizados unas cinco veces sin que se perjudique la calidad de limpieza del material.

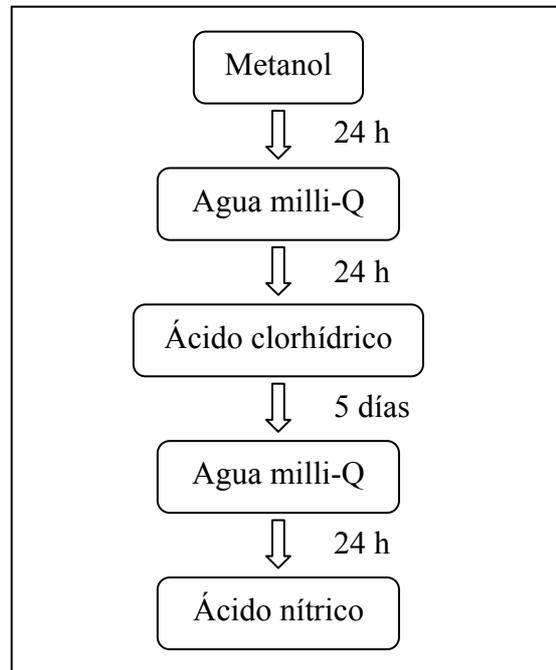


Figura II.1. Secuencia seguida durante la limpieza de los cartuchos de filtración.

3. Botes para el análisis de sólidos en suspensión

Las botellas destinadas a la recogida de agua para la determinación de los sólidos en suspensión pueden ser de cualquier material plástico y no precisan de una limpieza exhaustiva como aquellas destinadas a otro tipo de análisis. En este caso sólo fue necesario realizar varios enjuagues de las botellas con agua, teniendo cuidado durante el muestreo de enjuagarlas de nuevo con el agua de la propia estación antes de realizar la toma.

4. Botes para el análisis de nutrientes

Teniendo en cuenta que entre los nutrientes que se iban a determinar estaban los fosfatos y diversos compuestos nitrogenados se debe evitar el uso de detergentes y de ácido nítrico durante la limpieza de los botes. De este modo, los frascos de plástico a utilizar, por ejemplo de polietileno, se enjuagan en primer lugar con agua milli-Q cinco veces y se dejan llenos de agua durante dos semanas para disolver cualquier partícula

que pudiera estar adherida al recipiente. Después se llenan con ácido clorhídrico 0,1 N y se tapan evitando que queden burbujas en su interior. Finalmente se guardan en el interior de una doble bolsa opaca hasta el momento del muestreo.

5. Botes para el análisis de metales pesados mayoritarios

En este caso, el material del frasco es importante que presente ciertas características tales como bajos contenidos y afinidad por los metales, así como alta tolerancia al tratamiento con ácidos fuertes sin sufrir degradación, rigidez, etc. De entre todos los materiales disponibles, el polietileno de baja densidad cumple estos requisitos, por lo que suele ser uno de los utilizados para este tipo de muestras. El volumen de los frascos es variable, siendo en nuestro caso de 30 mL. En este caso el protocolo de limpieza seguido, esquematizado en la figura II.2, se desarrolla en todo momento bajo una campana de flujo laminar, para garantizar la ausencia de partículas en el ambiente.

En primer lugar los botes deben limpiarse cinco veces con agua milli-Q, después de lo cual se llenan con ácido clorhídrico 3 N y se dejan, junto con sus tapones, en un baño caliente (80-90°C), que contiene este mismo ácido, durante cuatro días. Una vez pasado este tiempo se sacan del baño y se enjuagan de nuevo cinco veces con agua milli-Q, tras lo cual se llenan con ácido nítrico 3N y se dejan en un baño de este mismo ácido durante otros cuatro días. En este caso no es necesario calentar y debe controlarse el tiempo que permanecen en el ácido, ya que es posible que los botes tomen un color amarillento si se permanecen en el baño demasiado tiempo. Por último se sacan del ácido y se enjuagan cinco veces con agua milli-Q, guardándose en una bolsa de plástico con cierre hermético que a su vez se conserva en el interior de otra bolsa de las mismas características. En cada bolsa se guardan hasta un máximo de diez botes, y todas ellas son almacenadas en el interior de dos bolsas opacas hasta el momento de la toma de muestras. Los ácidos utilizados durante la limpieza de estos botes pueden ser reutilizados hasta cinco veces, después de lo cual hay que desecharlos.

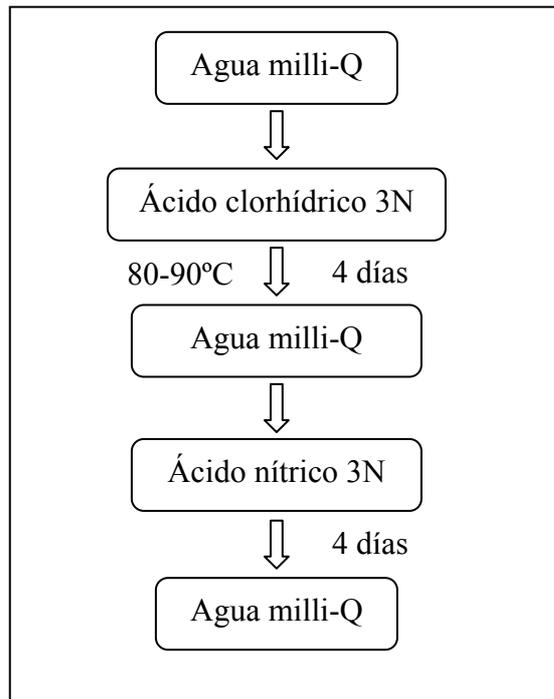


Figura II.2. Secuencia seguida para la limpieza de los botes de LDPE destinados a la recogida de agua para la determinación de metales pesados mayoritarios.

6. Botes para el análisis de metales pesados minoritarios

Estos botes son los destinados a la recogida de agua para la determinación de los elementos traza, por lo que se debe ser especialmente cuidadosos durante su limpieza.

Por las mismas razones antes expuestas, el material más utilizado es el polietileno de baja densidad, siendo su volumen dependiente de las etapas de preconcentración y técnicas analíticas a utilizar. En este caso se utilizan frascos de 500 mL.

Para realizar la limpieza de estos botes se requiere la colaboración de dos personas, una de ellas debe llevar dos guantes en cada mano y su única función es sostener los botes y realizar sus enjuagues, mientras que la otra persona será la encargada de manipular las botellas con el agua milli-Q y los ácidos que se requieren para la limpieza. En primer lugar, los botes son enjuagados con agua milli-Q cinco veces, y se llenan posteriormente con ácido clorhídrico 3N tapándose y evitando que queden burbujas de aire en el interior. Las botellas con ácido se guardan en el interior de un bidón en el que se han colocado varias bolsas opacas, una en el interior de otra, y que se encuentra lleno de ácido clorhídrico 0,1 N. Una vez situadas las botellas en el interior

del baño de ácido, se procede a cerrar cada una de las bolsas, cerrando y precintando finalmente el bidón para evitar la salida de vapores ácidos. Las botellas deben permanecer en el interior de este baño un mínimo de seis semanas. Pasado este tiempo de nuevo se requiere la intervención de dos personas para realizar el enjuague de las botellas con agua milli-Q cinco veces en el interior de una campana de flujo laminar. Una vez enjuagadas las botellas, se introducen individualmente en el interior de una doble bolsa de plástico con cierre hermético. Estas bolsas se guardan en el interior de dos bolsas opacas hasta el momento del muestreo. Los ácidos utilizados durante este proceso pueden ser reutilizados unas cinco veces sin que afecte a la limpieza de los botes.

7. Material de plástico: puntas de pipetas, cubetas del automuestreador

Todo el material adicional que va a ser utilizado durante la preparación de las muestras previa al análisis debe ser sometido también a una serie de tratamientos para su limpieza. En este caso el protocolo seguido para limpiar este tipo de material es similar al descrito en la figura II.2 y que ha sido utilizado para la limpieza de los botes de LDPE utilizados para el análisis de metales pesados mayoritarios, con la diferencia que en este caso todo el procedimiento de limpieza se realiza a temperatura ambiente. Del mismo modo, todo el proceso se lleva a cabo en el interior de una campana de flujo laminar, incluyendo el secado final para evitar la contaminación. Una vez seco el material se guarda en el interior de dos bolsas de plástico con cierre hermético.

8. Material de teflón

Durante la preconcentración de las muestras que se realiza frecuentemente para la determinación de elementos minoritarios en las muestras suelen emplearse recipientes de materiales como el teflón, ya que presenta alta resistencia a los ácidos y baja capacidad de adsorción. Dentro de este tipo de material se engloban los embudos de separación y las botellas destinadas a almacenar los reactivos y disoluciones utilizadas en la preconcentración.

En el caso de los embudos de separación hay que comenzar la limpieza añadiendo unos mililitros de cloroformo y agua en el interior de cada embudo asegurándose que no existen pérdidas por ninguna de las uniones. Después se enjuagan

con agua milli-Q y se desmontan manteniendo las piezas pequeñas en el interior del cuerpo del embudo, a excepción de la llave propiamente dicha. A partir de aquí todo el material sigue el procedimiento que se muestra en la figura II.3.

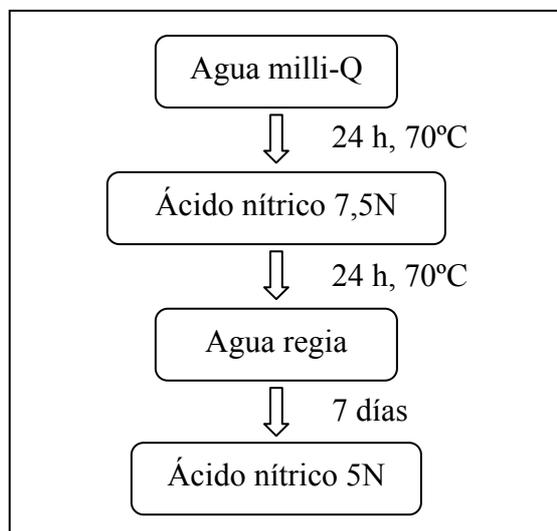


Figura II.3. Procedimiento de limpieza del material de teflón destinado a la realización de la preconcentración.

En primer lugar se mantiene el material en el interior de una bañera de agua milli-Q caliente durante 24 horas. Después se saca del baño y se enjuaga cinco veces con agua milli-Q. Una vez todo el material ha sido enjuagado se deposita en el interior de un baño de nítrico 7,5 M calentando durante otras 24 horas. De nuevo se saca el material y se enjuaga con agua milli-Q introduciéndolo después en un baño de agua regia a temperatura ambiente. Durante este paso hay que tener un cuidado especial, puesto que puede ocurrir la ebullición del agua regia, por lo que la introducción del material en este baño debe hacerse muy lentamente. El material debe permanecer en este baño durante una semana. Después es enjuagado de nuevo con agua milli-Q, esta vez en el interior de la campana de flujo laminar. Finalmente, una vez montados los embudos, se llenan de ácido nítrico 5 N hasta que se requiera su uso.

Un procedimiento análogo es empleado para la limpieza de otros recipientes de teflón.

Todo el material es almacenado individualmente en el interior de bolsas de plástico con cierre hermético.

Validación de los protocolos de limpieza

El uso de los protocolos de limpieza que han sido descritos es de especial importancia para la determinación de los elementos metálicos, ya que la baja concentración a la que éstos aparecen precisa de unos blancos libres de contaminación. Para comprobar la correcta aplicación de dichos protocolos se procedió a elaborar diferentes blancos con agua milli-Q a los que se les sometió al proceso completo que sufre la muestra desde el mismo momento en que se realiza la toma, es decir, filtración, acidificación y almacenamiento. De este modo se prepararon cuatro blancos distintos, dos de ellos fueron preparados sin aplicar técnicas limpias y los otros dos se prepararon siguiendo dichas técnicas. En cada caso los dos blancos preparados se correspondían con el análisis de metales mayoritarios y minoritarios, ya que los protocolos de limpieza empleados en cada caso muestran algunas diferencias. En la tabla II.2 se muestran las características de cada uno de los blancos realizados.

Tabla II.2. Blancos preparados para validar los protocolos de limpieza.

	Uso de técnicas limpias	Parámetro analizado
Blanco 1	No	Metales mayoritarios
Blanco 2	No	Metales minoritarios
Blanco 3	Sí	Metales mayoritarios
Blanco 4	Sí	Metales minoritarios

El contenido metálico de todos los blancos se determinó utilizando la técnica de ICP-MS, ya que los bajos límites de detección que se consiguen con esta técnica la hace ideal para dicha función. En la tabla II.3 se presentan los resultados obtenidos para el análisis de todos los metales que fueron objeto de estudio en forma de porcentaje de variación en la señal registrada para los blancos realizados utilizando técnicas limpias, blanco 3 y blanco 4, respecto a los blancos realizados sin el uso de las técnicas de limpieza, blanco 1 y blanco 2, respectivamente para metales mayoritarios y minoritarios. De este modo, un valor negativo indica un menor contenido del metal en el blanco realizado siguiendo los protocolos de limpieza establecidos.

Tabla II.3. Porcentaje de variación de la señal del blanco cuando se usan los protocolos de limpieza.

	Cu	Mn	Co	Ni	Zn	Cd	Pb
Metales mayoritarios	-22,96	10,74	2,89	-5,12	-144,61	-6,76	-63,51
Metales minoritarios	-21,79	6,17	2,03	-10,39	-152,19	-1,84	-99,92

Como se observa en la tabla II.3, para la mayoría de los metales analizados se consiguió disminuir su contenido en el blanco al aplicar los protocolos de limpieza establecidos, pudiendo destacar la gran disminución observada en el contenido de zinc y plomo, que alcanzó un 150% y un 100% respectivamente. Estos dos metales han sido siempre especialmente problemáticos a la hora de la contaminación de las muestras, pudiendo destacar que fue el plomo uno de los primeros elementos determinado mediante la aplicación de técnicas limpias en los trabajos de Patterson y Settle (1976). Así mismo, en los datos presentados en la tabla II.3 se observa que, en la mayor parte de los casos, los protocolos aplicados en el análisis de metales minoritarios consiguieron blancos iguales o mejores que aquellos realizados siguiendo los protocolos correspondientes a la determinación de metales mayoritarios, tal y como era de esperar.

Por tanto, del estudio realizado a los diferentes blancos se concluye la necesidad del uso de técnicas de limpias durante la preparación del material para el muestreo, la toma de muestras y la manipulación de las mismas si se quieren conseguir resultados fiables para las concentraciones de los elementos metálicos presentes en las aguas naturales, especialmente cuando dichos elementos se encuentran en concentraciones del orden de $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$.

Metodología analítica

A continuación se describen los procedimientos analíticos aplicados para la determinación de todas las variables objeto de análisis. La preparación de todas las disoluciones empleadas en dichos procedimientos, así como los reactivos e instrumentos analíticos utilizados se describen detalladamente en el anexo 1 del presente trabajo.

1. Variables físico-químicas

Como se ha señalado anteriormente, durante la toma de muestras se determinaron “in situ” algunas variables físico-químicas como pH, temperatura, conductividad, salinidad y oxígeno disuelto. Para su medición se tomaron muestras de agua sin filtrar que eran analizadas inmediatamente con un medidor portátil multiparámetro provisto de:

- sensor de temperatura
- electrodo combinado de pH, utilizado para la medición potenciométrica del mismo
- sonda conductimétrica utilizada para la medición de la conductividad y la salinidad del agua.
- sonda voltamperométrica utilizada para la medición del oxígeno disuelto en las muestras de agua.

2. Sólidos en suspensión

La determinación de los sólidos presentes en la muestra fue realizada en el laboratorio por diferencia de peso antes y después de la filtración. Para ello previamente se pesa un filtro de nylon de 0,45 μm de tamaño de poro que ha sido secado en estufa a 105°C hasta peso constante, después de lo cual se hacen pasar a su través pequeños volúmenes de la muestra (10 mL) hasta que el filtro se satura. Una vez concluida la filtración se seca de nuevo el filtro en estufa a 105 °C hasta peso constante. La cantidad de materia en suspensión se determina por diferencia del peso del filtro seco antes y después de la filtración en función del volumen filtrado.

3. Nutrientes

Los nutrientes fueron analizados siguiendo la metodología descrita por diversos autores y recopilada por Rodier (1990) para el análisis de aguas, a excepción del caso de los nitratos, en la que se ha utilizado un método en continuo por inyección de flujo descrito por Tovar y col. (2002). A continuación se expone la metodología analítica utilizada para la determinación de cada uno de los nutrientes.

a. Nitritos

Los nitritos fueron determinados siguiendo el método colorimétrico de Griess, basado en la formación de un compuesto coloreado púrpura resultado de la diazotación de la sulfanilamida en medio ácido y posterior copulación con la N-1-naftil etilendiamina.

Para ello se toman 25 ml de muestra en un erlenmeyer y se añaden 0,5 mL de una disolución de sulfanilamida 0,06 M agitando con fuerza. Posteriormente se deja reposar 5 minutos y se adicionan 0,5 mL de una disolución de N-1-naftil-etilendiamina 0,004 M. Antes de realizar la determinación colorimétrica hay que esperar un mínimo de diez minutos para que se forme el complejo coloreado. Por último se mide la absorbancia del complejo a una longitud de onda de 543 nm mediante un espectrofotómetro. Los patrones para la curva de calibrado se preparan a partir de una disolución madre de $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de nitrógeno nitroso.

b. Nitratos

Para el análisis de nitratos se realizó una reducción previa a nitritos mediante el paso de la muestra a través de una columna rellena de cadmio y posteriormente se realiza la determinación de los nitritos mediante el método colorimétrico de Griess anteriormente descrito.

Para asegurar la reproducibilidad de las medidas se utilizó un sistema de análisis por inyección en flujo, cuyo esquema se muestra en la figura II.4. Antes de comenzar el análisis es preciso acondicionar la columna de cadmio. Para ello se utilizan unos 25 g de cadmio que se lavan con ácido clorhídrico 6 N y después se enjuaga el cadmio varias veces con agua milli-Q hasta asegurarse que se han eliminado todos los restos de ácido. Entonces se añade al cadmio una disolución de sulfato de cobre al 2% y se agita. Esta operación se repite varias veces hasta que en la disolución aparezca un precipitado coloidal de color pardo. Cuando esto ocurre se lava el cadmio con agua milli-Q hasta eliminar todo el precipitado y se rellena la columna. Una vez que la columna está lista y antes de proceder al análisis propiamente dicho es necesario acondicionarla y activarla, operación realizada con 100 mL de una disolución compuesta de cloruro amónico (0,25 M) y ácido etilendiamintetraacético, AEDT, ($6\cdot 10^{-3}$ M) y otros 100 mL de una

disolución formada por 75 ml de la misma disolución y 25 ml de una disolución de nitratos de $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Después de esto ya puede procederse a la determinación de nitratos en las muestras. Este método se basa en la inyección de un volumen de muestra sobre una corriente de NH_4Cl -AEDT que atraviesa la columna de cadmio y una vez reducida se mezcla con los reactivos necesarios para la determinación de los nitritos. Estos reactivos son:

- Reactivo 1: disolución de cloruro amónico y AEDT.
- Reactivo 2: disolución de sulfanilamida 0,6 M.
- Reactivo 3: disolución de N-1-naftil-etilendiamina 0,004 M.

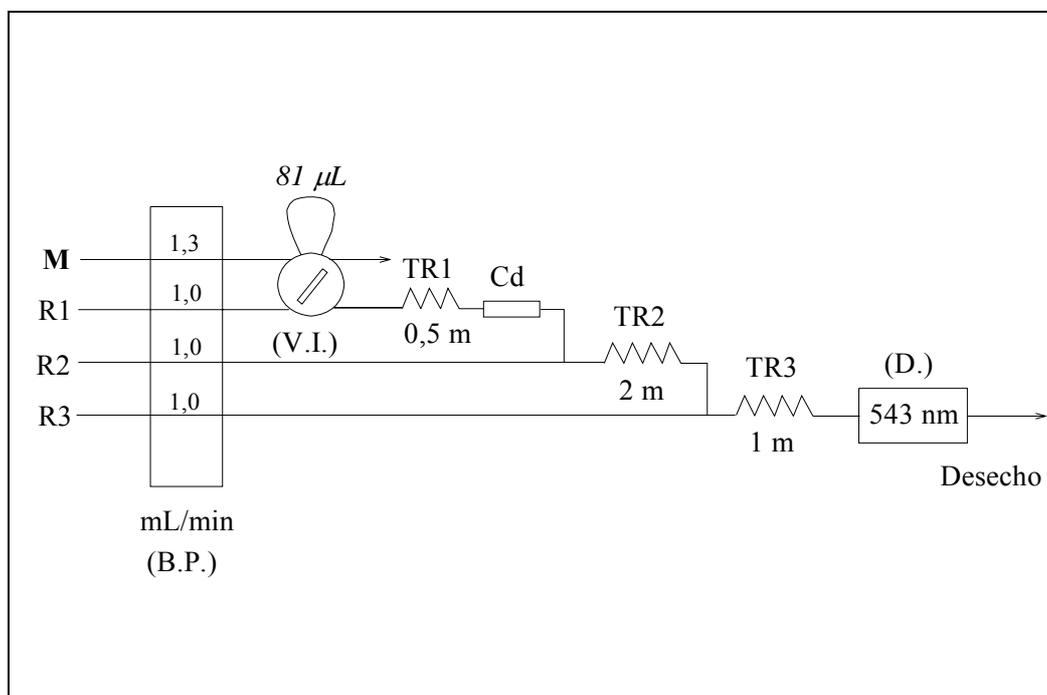


Figura II.4. Esquema del sistema F.I.A. utilizado para la determinación de nitratos en agua. (M): Muestra, (R1): Reactivo 1, (R2): Reactivo 2, (R3): Reactivo 3.

Los patrones de nitratos se preparan a partir de una disolución madre de $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de nitrógeno nítrico y se someten al mismo procedimiento que las muestras.

En este método hay que tener en cuenta que la concentración obtenida corresponde al nitrógeno nítrico y nitroso, por lo que debe restarse la concentración obtenida en la determinación de nitritos.

c. Fosfatos

Los fosfatos se determinaron siguiendo un método basado en la reducción por ácido ascórbico del compuesto fosfomolibdico que forma el fosfato con molibdato en medio ácido.

En este caso se toman 20 mL de muestra en matraces de 25 mL y se añaden 4 mL de una disolución formada por un 50% de ácido sulfúrico 6 N, un 15% de molibdato amónico al 4% p/v, un 30% de disolución de ácido ascórbico 0,1 M y un 5% de disolución de tartrato doble antimonio-potasio 0,001 M. Después se enrasa con agua milli-Q y se dejan transcurrir 20 minutos antes de medir la absorbancia de la disolución a 690 nm en un espectrofotómetro. Los patrones para realizar la curva de calibrado se preparan a partir de una disolución de $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de P-PO_4^{3-} .

d. Amonio

El análisis del contenido en amonio se realizará siguiendo el método colorimétrico de azul de indofenol, el cual mide el nitrógeno amoniacal, tanto en forma NH_3 como NH_4^+

Para desarrollar dicho método se toman 25 mL de muestra en un erlenmeyer y se le añade 1 mL de una disolución alcohólica de fenol 1M, 1 mL de una disolución de nitroprusiato sódico 0,02 M y 2,5 mL de una disolución oxidante formada por citrato sódico, hidróxido sódico y hipoclorito sódico. Se deja en reposo tres horas y se mide la absorbancia a 640 nm en un espectrofotómetro. Los patrones para la calibración se preparan a partir de una disolución de $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de nitrógeno amoniacal.

e. Influencia de la salinidad en la determinación de nutrientes

La metodología utilizada para el análisis de nutrientes ya había sido aplicada con anterioridad para el análisis de agua de mar con buenos resultados (Tovar y col., 2000). Por esta razón los estudios realizados en este caso se centraron en las determinaciones de nutrientes para valores de salinidad intermedios. Para ello se prepararon rectas de calibración de distinta salinidad para cada nutriente. Para obtener las salinidades deseadas en cada caso se realizaron las diluciones oportunas a partir de una disolución de agua de mar sintética de salinidad 35 preparada tal y como se recoge en el anexo 1 de este trabajo. De este modo se realizaron rectas de calibración de salinidades de 0, 5, 15,

25 y 35 para cada uno de los nutrientes. Los rangos de concentración elegidos para realizar las calibraciones fueron de 0-1000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ en el caso de fosfatos, amonio y nitratos y de 0-250 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ en el caso de nitritos. Las rectas se han representado en la figura II.5, y los valores de sus coeficientes se muestran en la tabla II.4.

Tabla II.4. Coeficientes de las rectas de calibrado obtenidas para diferentes salinidades. A: ordenada en el origen; B($\cdot 10^4$): pendiente; R^2 : coeficiente de regresión.

Salinidad	Nitratos			Nitritos			Amonio			Fosfatos		
	A	B	R^2	A	B	R^2	A	B	R^2	A	B	R^2
0	-0,012	2,454	0,9978	-0,001	37,459	0,9998	0,027	5,046	0,9950	0,076	12,71	0,9880
5	-	-	-	-0,003	36,579	0,9996	0,027	5,209	0,9929	0,022	13,22	0,9950
15	-0,018	2,670	0,9961	0,007	36,309	0,9995	0,034	4,662	0,9965	0,027	12,71	0,9942
25	-0,011	2,510	0,9997	0,008	35,974	0,9997	0,063	4,952	0,9957	0,036	12,83	0,9893
35	-0,019	2,610	0,9999	-	-	-	0,023	5,480	0,9115	0,021	13,14	0,9977

Como puede observarse en la tabla II.4, las rectas de calibración obtenidas para los nitratos, nitritos y fosfatos tuvieron coeficientes muy similares para las distintas salinidades estudiadas, sin mostrar diferencias relacionadas con la matriz salina ni en la pendiente ni en la ordenada en el origen. Sin embargo, en el caso del amonio sí se encontraron diferencias entre las rectas correspondientes a cada salinidad, lo que demostró la influencia de este parámetro en la determinación de amonio.

A la vista de estos resultados se optó por utilizar rectas de calibrado con patrones acuosos simples para el análisis de fosfatos, nitratos y nitritos. Por el contrario, en la determinación de amonio fue necesario tener en cuenta la salinidad de la muestra que iba a ser analizada y preparar patrones con una matriz de agua de mar sintética de la misma salinidad que la muestra.

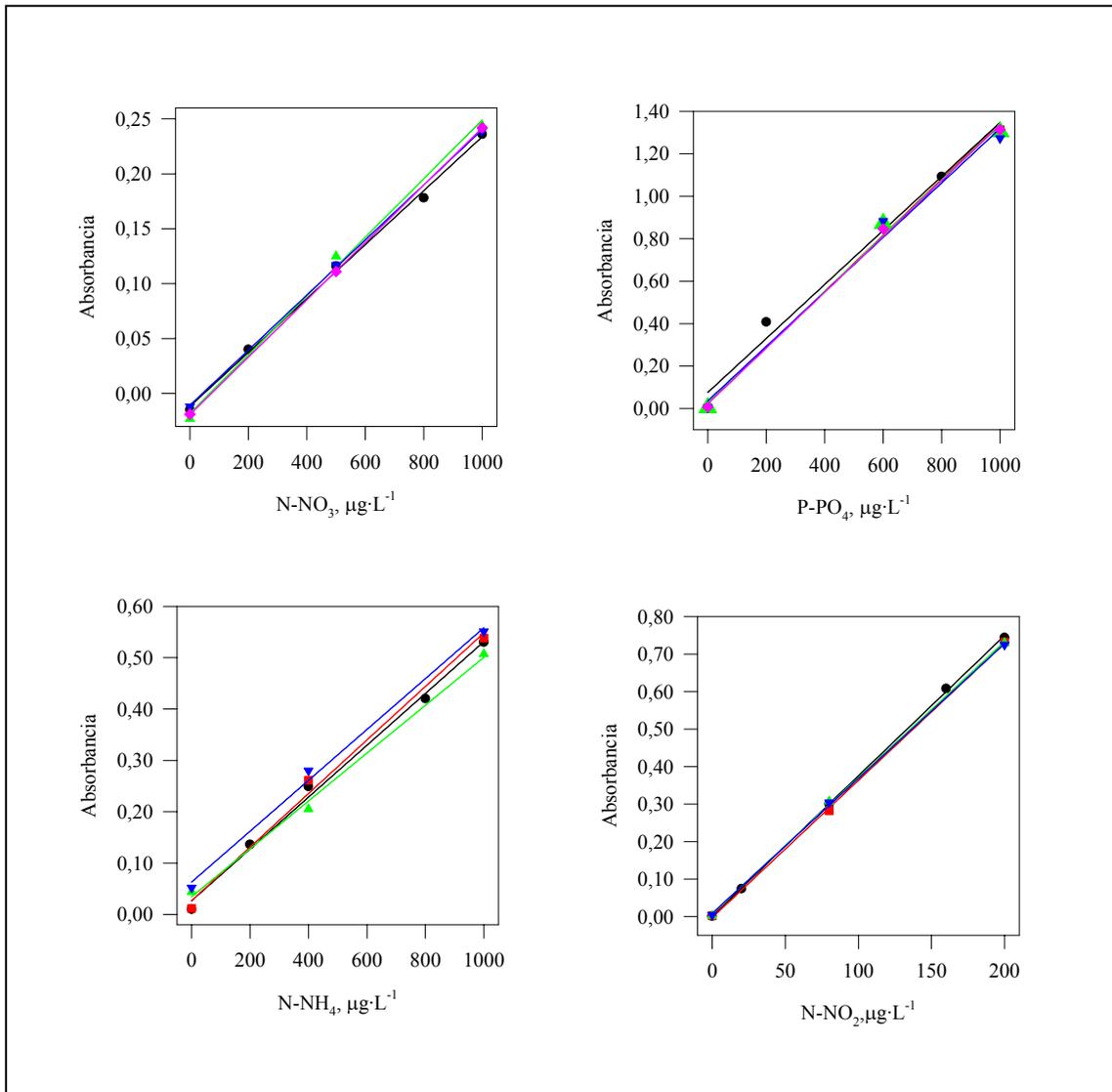


Figura II.5. Rectas de calibrado de nutrientes para distintas salinidades. ● S=0; ■ S=5; ▲ S=15; ▼ S=25; ◆ S=35

4. Metales

Para realizar la determinación de metales en las muestras de agua se siguieron distintos procedimientos dependiendo del nivel de concentración que presentaban dichos metales y de si la sensibilidad de las técnicas empleadas era suficiente para su análisis. Así, se ha decidido englobar dentro del término de metales mayoritarios aquellos cuyas concentraciones fueron suficientemente altas para ser determinados mediante el análisis directo con espectroscopía de absorción atómica con atomización electrotrémica, y como metales minoritarios aquellos en los que fue necesario realizar

un paso previo de preconcentración para poder realizar su determinación analítica mediante la técnica de espectroscopía de masas con plasma acoplado inductivamente.

a. Metales mayoritarios

Para reducir al mínimo la manipulación de las muestras, siempre que la concentración lo permitía se llevó a cabo la determinación directa de metales mediante el análisis por absorción atómica con atomización electrotrémica en un equipo UNICAM como el que se muestra en la fotografía.



Como ya se ha comentado, esta técnica se basa en la introducción de unos microlitros de muestra en una cubeta de grafito donde es sometida a distintas etapas de calentamiento para su secado, calcinación y posterior atomización. En este sentido, para cada uno de los metales analizados, cobre y manganeso en este caso, fue necesario realizar una optimización de las temperaturas y tiempos de calentamiento necesarios.

Uno de los principales problemas que presenta esta técnica analítica estriba en la dificultad de realizar medidas precisas cuando tenemos matrices complejas como sucede en el presente caso con el agua de mar. De modo que también fue necesario efectuar diferentes estudios para conseguir minimizar las interferencias de matriz. Aunque una de las formas más utilizadas para reducir los efectos de la matriz se basa en la adición de modificadores, en este trabajo se evitó su uso con objeto de reducir las posibles fuentes de contaminación de las muestras. Así se estudiaron cuidadosamente las condiciones de trabajo del equipo que permitían obtener resultados fiables mediante la eliminación de los efectos debidos a la matriz salina. Entre estas condiciones se estudió la aplicación de diferentes correctores de fondo instrumentales como la lámpara de deuterio y el sistema de corrección basado en el efecto Zeeman, así como el uso de calibraciones basadas en adiciones estándar.

Como en casos anteriores, los patrones fueron preparados siempre en el interior de una campana de flujo laminar para evitar problemas de contaminación. Del mismo modo, junto al equipo de medida se mantuvo un espacio limpio y aislado del ambiente externo donde se podía realizar la apertura de las bolsas donde se almacenaban las muestras. En todo momento la manipulación de las muestras, así como del material utilizado para el análisis, se realizó con guantes de plástico.

Manganeso

Para realizar la determinación directa de manganeso en aguas de distinta salinidad mediante espectroscopía de atomización electrotérmica se realizaron distintas experiencias para encontrar los parámetros de funcionamiento óptimo del equipo. Estas experiencias se realizaron manteniendo los parámetros de funcionamiento que el equipo propone por defecto para el análisis de manganeso. Dichos parámetros son los que se recogen en la tabla II.5.

Tabla II.5. Parámetros de operación del equipo de atomización electrotrémica UNICAM establecidos por defecto.

Etapa	Secado	Calcinación	Atomización	Limpieza
Temperatura (°C)	100	900	1800	2500
Rampa de temperatura(°C·s ⁻¹)	10	150	0	0
Tiempo(s)	30	20	3	3

Antes de estudiar la influencia de la salinidad en la seál se realizaron algunas determinaciones en muestras no salinas. De este modo, con las condiciones presentadas en la tabla II.5, y utilizando como corrector de fondo el efecto Zeeman, se realizaron análisis de dos muestras de referencia certificadas, una de agua de río (SRM-1643d) y otra de agua potable (LGC-6011). Debido a la alta concentración de manganeso que presentaban dichas muestras fue necesario realizar diluciones que fueron llevadas a cabo de forma automática por el equipo de análisis utilizado. Los resultados obtenidos para las diferentes diluciones, así como el valor certificado de las muestras se recogen en la tabla II.6. Así mismo aparecen los resultados de aplicar la prueba de significación basada en el cálculo del estadístico t para la comparación de una media con un valor conocido, cuyo procedimiento se explica detalladamente en el anexo 4.

Tabla II.6. Resultados del análisis de manganeso, en µg·L⁻¹ de dos muestra de referencia realizando distintas diluciones

Muestra	Valor certificado	Dilución	Valor medido	ε _r , %	t	Test t
SRM-1643d	37,66	1:5	38,70 ± 0,19	2,28	3,09	Aceptado
		1:10	40,21 ± 1,98	6,77	4,01	Aceptado
		1: 15	43,01 ± 0,36	14,20	15,30	Rechazado
LGC-6011	52	1:5	54,16 ± 1,50	4,15	2,35	Aceptado
		1:10	54,40 ± 3,02	4,61	3,00	Aceptado
		1: 15	60,25 ± 0,09	15,86	47,51	Rechazado

ε_r: error relativo; t₂ = 4,30

Como puede observarse, al aumentar la dilución de la muestra se obtuvieron mayores valores de error relativo, lo que parece indicar la presencia de un error sistemático asociado a la dilución instrumental. Este error se hace realmente importante

para diluciones altas, de hecho el estadístico utilizado indica que existen diferencias significativas entre el valor obtenido y el valor certificado, por lo que es aconsejable no diluir las muestras en exceso. Cuando se requiere la dilución esta debe ser lo más pequeña posible y preparando en este caso rectas de calibrado con los patrones más altos, dentro del rango de linealidad.

Por otro lado, se observó que la muestra no se secaba completamente en el interior del tubo de grafito lo que implicaba modificar, al menos, las condiciones de secado seleccionadas por el equipo. Las nuevas condiciones afectaron únicamente a la etapa de secado, realizando dicha etapa más lentamente, con una rampa de temperatura de $5^{\circ}\text{C}\cdot\text{s}^{-1}$ y un tiempo de secado a 100°C de 40 s.

Una vez confirmada la corrección de esta metodología para obtener resultados exactos para el análisis de manganeso en aguas no salinas para bajas diluciones, se pasó a estudiar la influencia de la salinidad en dichos análisis. Para ello se inició con el análisis de una recta de calibrado con patrones acuosos no salinos y otra recta con patrones de igual concentración pero preparados en una matriz de agua de mar sintética de salinidad 4, siendo el intervalo de concentración de $0\text{-}5\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ en ambos casos. La razón por la que se eligió esta salinidad y no otra mayor se debe a que es la más alta que se consigue tras una dilución 1:10 de las muestras. Además, las rectas fueron medidas utilizando para corregir la absorción de fondo tanto la lámpara de deuterio como el sistema de efecto Zeeman, para determinar así cuál de ellos resulta ser el más adecuado. En la tabla II.7 se muestran los valores obtenidos para cada una de las rectas que se han representado en la figura II.6.

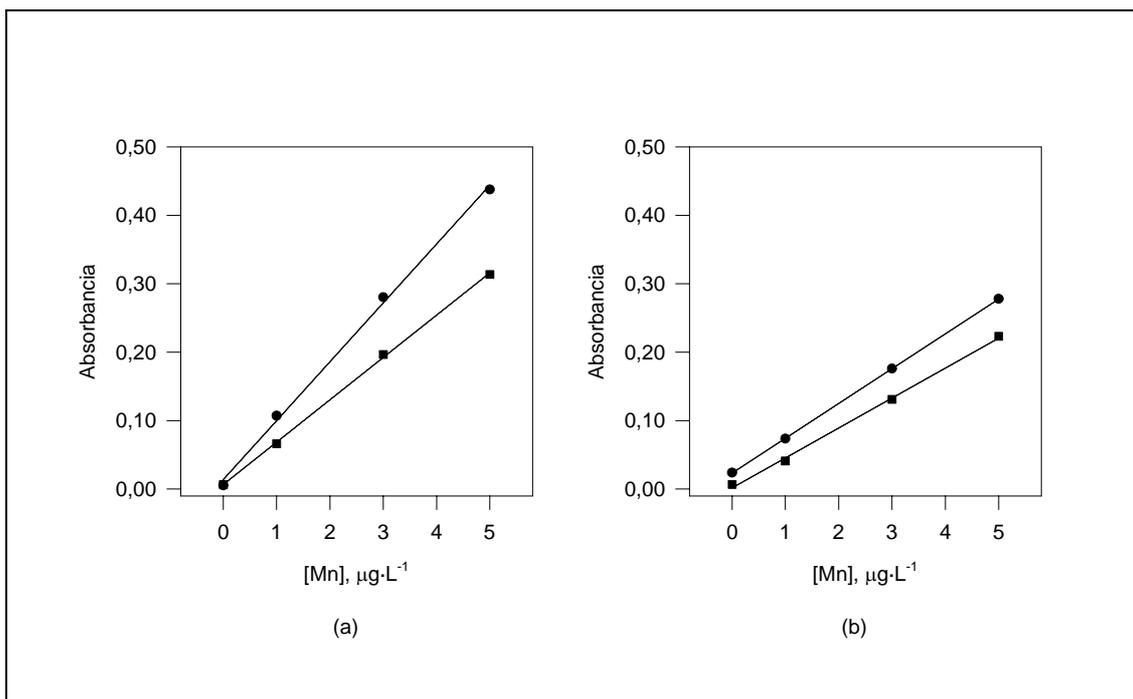


Figura II.6. Rectas de calibrado para el análisis de manganeso por GFAAS utilizando la lámpara de deuterio (●) y el efecto Zeeman (■) como corrector de fondo. (a) Patrones con agua milli-Q; (b) Patrones con agua salina sintética S=4.

Como se puede observar en la figura II.6 y en la tabla II.7, las rectas de calibrado obtenidas con patrones acuosos y las correspondientes a patrones salinos muestran grandes diferencias. En el caso de las aguas salinas se consigue una menor sensibilidad, como puede concluirse de las menores pendientes que se obtienen en dichas muestras tanto cuando se usa como corrector de fondo la lámpara de deuterio como al aplicar el efecto Zeeman. En el caso del uso de deuterio se obtiene además unos blancos más altos cuando se trata de las muestras salinas, como indica el aumento del valor de la ordenada en el origen.

Tabla II.7. Valores de las rectas de calibrado para diferentes salinidades y utilizando distinta corrección de fondo.

	Salinidad	Corrector de fondo	Ordenada en el origen	Pendiente	R ²
Recta 1	0	Deuterio	0,0141	0,0859	0,9979
Recta 2	0	Zeeman	0,0065	0,0619	0,9995
Recta 3	4	Deuterio	0,0234	0,0509	0,9999
Recta 4	4	Zeeman	0,0019	0,0438	0,9980

Por otro lado, para los dos tipos de agua se observa una disminución de la sensibilidad cuando se aplica la corrección basada en el efecto Zeeman, lo cual puede resultar en un inconveniente cuando se trata de determinar concentraciones de manganeso bajas, aunque el uso de este tipo de corrección consigue disminuir la absorbancia de los blancos. Además, el hecho de obtener valores menores de absorbancia permite que puedan medirse concentraciones mayores de manganeso sin necesidad de realizar diluciones elevadas, lo cual como se ha demostrado anteriormente implicaría importantes errores instrumentales.

Una vez que se decidió realizar los análisis de manganeso en las muestras utilizando el efecto Zeeman como corrector de fondo, se estudió el efecto que tenía sobre el análisis las modificaciones de las rampas de temperatura del horno de grafito. En general, todos los autores parecen coincidir en la importancia de realizar un buen secado de la muestra previo a la calcinación (Huang y col., 1995; Su y Huang., 1998), y algunos proponen incluso realizar la calcinación en dos etapas (Cabon y Lebihan, 1995). Por otro lado la realización de una etapa de enfriamiento previo a la atomización permite disminuir las interferencias debidas a la presencia de cloruros en las muestras (Huang y col., 1995; Su y Huang, 1998). De este modo se han realizado distintas combinaciones de las etapas propuestas en la tabla II.8 y se han aplicado a la determinación de la absorbancia de una muestra real de salinidad 1.

Tabla II.8. Diferentes etapas de temperatura de la cámara de grafito propuestas para la determinación de manganeso.

Etapas	Temperatura (°C)	Rampa de temperatura (°C·s⁻¹)	Tiempo (s)
Secado 1	90	10	30
Secado 2	200	5	20
Calcinación 1	600	100	40
Calcinación 2	900	100	40
Enfriamiento	20	0	15
Atomización	1800	0	3
Limpieza	2500	0	3

Las diferentes combinaciones de las etapas propuestas en la tabla II.8 que se han aplicado en la determinación de manganeso de una muestra real se presentan en la tabla II.9, donde se señala la modificación que se ha realizado en relación a los parámetros iniciales expuestos en la tabla II.5. Los valores de absorbancia obtenidos para cada una de ellas, así como la imprecisión obtenida en tres medidas de la misma muestra, se han representado en la figura II.7.

Tabla II.9. Programas de etapas de temperatura propuestos para la determinación de manganeso.

Condiciones	Modificaciones realizadas
1	Parámetros por defecto (tabla II.5)
2	Dos etapas de secado
3	Dos etapas de secado y una etapa de enfriamiento
4	Dos etapas de secado y dos etapas de calcinación
5	Dos etapas de secado y nitrato de magnesio como modificador de matriz
6	Dos etapas de secado y ácido nítrico como modificador de matriz
7	Dos etapas de secado y nitrato amónico como modificador de matriz

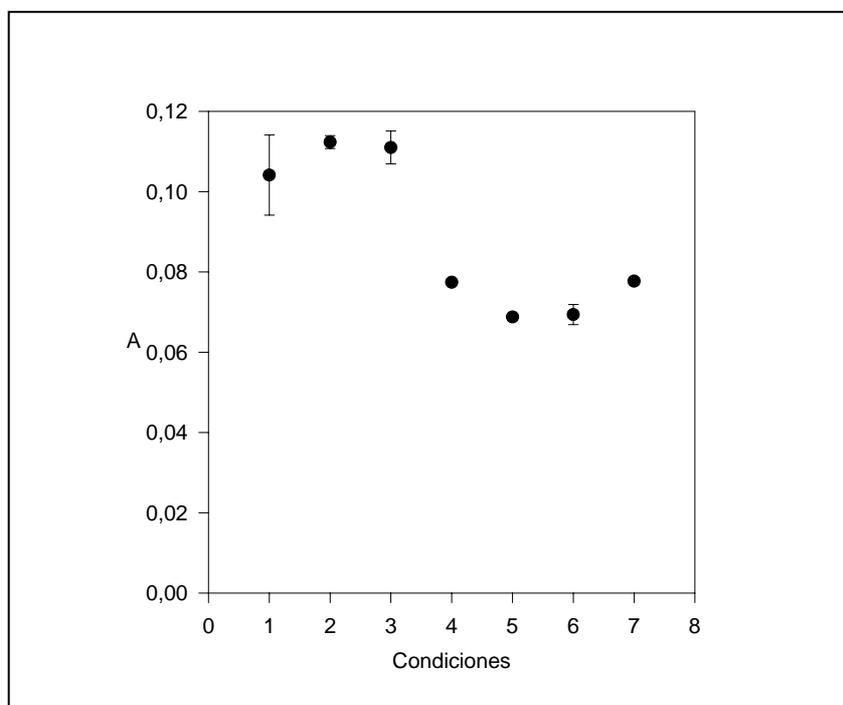


Figura II.7. Absorbancia obtenida en la determinación de manganeso utilizando cada una de las condiciones propuestas en la tabla II.9.

Como se observa en la figura II.7 la mayor absorbancia se producía al añadir una etapa de secado más a las condiciones iniciales de operación de la cámara de grafito, y mejorando sensiblemente la precisión del método. El hecho de añadir una etapa de enfriamiento previo a la calcinación no mejoró estos resultados, y en el caso de la aplicación de dos etapas de calcinación se observó una importante disminución en la señal. Por otro lado, en lo que respecta a los resultados obtenidos con la adición de diferentes modificadores de matriz cabe señalar la mejoría en la precisión de las medidas, pero acompañada de un fuerte descenso en la señal analítica. Este hecho junto a la necesidad de minimizar el tratamiento de la muestra para reducir al máximo la posibilidad de contaminación, condujo a tomar la decisión de no usar modificadores de matriz, ya que los resultados obtenidos sin ellos eran exactos y precisos. Finalmente los parámetros de operación del horno de grafito fueron los que se muestran en la tabla II.10.

Tabla II.10. Parámetros de operación de la cámara de grafito para el análisis de manganeso.

Etapa	Secado	Secado	Calcinación	Atomización	Limpieza
Temperatura (°C)	100	200	900	1800	2500
Rampa de temperatura(°C·s⁻¹)	10	5	150	0	0
Tiempo(s)	40	10	20	3	3

Una vez que se optimizaron los parámetros de trabajo del equipo, se determinó el intervalo de concentración de cumplimiento de la ley de Beer. Para ello se realizó una recta de calibrado entre 0-15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, observando que la linealidad se perdía a partir de 7 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, tal y como se observa en la figura II.8.

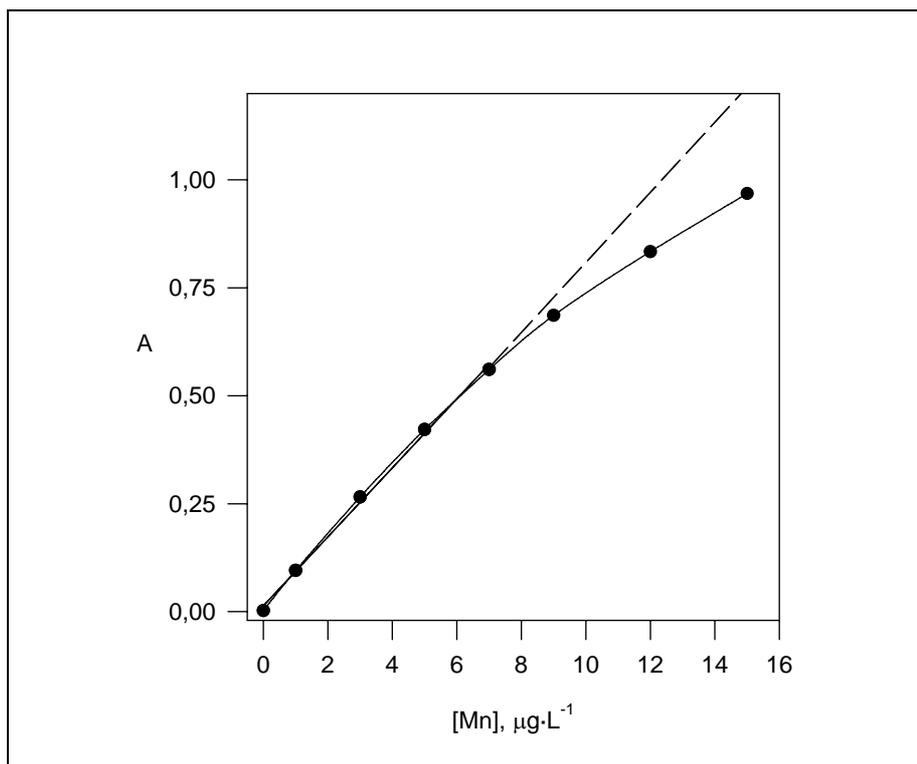


Figura II.8. Estudio del intervalo en el que se cumple la ley de Beer para la determinación de manganeso por GFAAS.

Aunque ya se demostró que con patrones preparados con agua salina sintética se obtenían buenas rectas de calibración, era necesario ver su aplicación a la determinación de muestras reales, ya que aunque el uso de este tipo de matriz sintética se aproxima mucho a la matriz real de agua de mar no se debe olvidar que sigue siendo una aproximación y que en muchos casos no es posible su utilización para efectuar cuantificaciones. De hecho, la utilización del método de adiciones estándar es la alternativa más usada cuando se trata de determinar metales en agua de mar por inyección directa de la muestra en una cámara de grafito. En este caso se tomó una muestra real de salinidad 16,6 para determinar su contenido en manganeso mediante la aplicación de una recta de calibración externa preparada con agua de mar sintética y mediante la aplicación de adiciones estándar. En el primer caso se obtuvo una concentración de $20,09 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, mientras que en el caso de las adiciones estándar se determinó una concentración de $27,58 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. En vista de las diferencias obtenidas utilizando los dos tipos de calibración se decidió utilizar el método de las adiciones estándar para la determinación de muestras salinas, ya que de este modo se eliminan las diferencias de matriz entre los patrones y la muestra. Uno de los inconvenientes que

presenta este método de calibración radica en que se suelen producir mayores imprecisiones debido a que presenta una reproducibilidad peor que el método de rectas externas. Para establecer el efecto de dicha reproducibilidad sobre los resultados se realizaron medidas de la concentración de manganeso en cuatro diluciones distintas de una misma muestra real de salinidad 20. Estas diluciones fueron preparadas y medidas por triplicado, consiguiendo así obtener un valor de concentración medio para cada dilución y una desviación estándar que indica la variabilidad de las determinaciones. Estos resultados se presentan en la tabla II.11.

Tabla II.11. Concentración de manganeso media y desviación estándar de las diluciones de una muestra real de salinidad 20 determinadas por adiciones estándar.

Dilución	[Mn] media($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	s.d.	RSD
1:20	17,28	1,02	5,90 %
1:10	17,41	1,51	8,67 %
1:6,7	16,65	1,10	6,61 %
1:5	16,64	0,99	5,95 %

Como se puede observar a partir de los datos de dicha tabla, los resultados obtenidos son similares en todos los casos, indicando esto que la imprecisión introducida por la matriz salina es asimilable, tal y como se desprende de los valores de desviación estándar relativa.

Posteriormente a los datos de concentración de la tabla II.11 correspondientes a las distintas diluciones se les aplicó un test de comparación de varias medias basado en el análisis de la varianza de un factor (ANOVA). Dicho test, cuyo procedimiento se explica detalladamente en el anexo 4, verifica si las diferencias entre las medias de cada dilución son demasiado grandes para explicarse por medio de los errores aleatorios y puede aplicarse siempre que no existan diferencias significativas entre las desviaciones típicas de cada grupo (Miller y Miller, 2002). Esta condición se ha comprobado mediante el test de Levene antes de proceder con el ANOVA. Los resultados obtenidos con el análisis de la varianza se muestran en la tabla II.12.

Tabla II.12. Resultados de la prueba ANOVA para comparación de medias.

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Cociente-F	p-Valor
Entre Grupos	3,27403	3	1,09134	1,03	0,4307
Intra Grupos	8,50193	8	1,06274		
Total	11,776	11			

En la tabla el valor de F representa el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos, y puesto que el valor de p del test F es superior a 0,05 se cumple la hipótesis nula, es decir, no existen diferencias significativas entre las concentraciones obtenidas a partir de las distintas diluciones. De modo que podemos concluir que la dilución de la muestra no produce alteración ninguna cuando se aplica el método de calibrado basado en la realización de adiciones estándar.

Aunque el método de adiciones estándar es muy útil para evitar los efectos producidos por la matriz, su utilización requiere una mayor manipulación de la muestra y un aumento del tiempo de análisis, resultando por tanto más conveniente la utilización de una calibración externa siempre que la muestra lo permita. Por ello, en el caso de las muestras con salinidad inferior a 1 se realizó un estudio similar al utilizado con las muestras salinas para comprobar si el uso de patrones acuosos simples permite llevar a cabo la correcta determinación del manganeso. En este caso se estudiaron dos muestras reales procedentes de río Guadalquivir y dos muestras de referencia utilizadas y descritas anteriormente, analizándose todas ellas mediante los dos tipos de calibración. A los resultados obtenidos se les aplicó la prueba t-student de comparación de dos medias, cuyo procedimiento se explica en el anexo 4, considerando la hipótesis nula de que las concentraciones obtenidas con ambos tipos de calibración no diferían significativamente. En la tabla II.13 se muestran los resultados obtenidos para cada muestra con cada una de las calibraciones realizadas así como el valor de t obtenido en el test de comparación de medias para un intervalo de confianza del 95%. Además se ha calculado el estadístico F para ver si las varianzas no mostraban diferencias significativas. Ambos parámetros estadísticos se comparan con un valor tabulado dependiendo de los grados de libertad, de modo que si el valor calculado es menor que el tabulado se acepta la hipótesis nula.

Tabla II.13. Comparación estadística entre las concentraciones de manganeso, en $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, determinadas en muestras de salinidad menor que 1 utilizando dos métodos de calibración distintos.

Muestra	Adición estándar	Recta externa	F	Test F	t	Test t
Real 1 ^a	25,53 ± 0,42	25,39 ± 0,70	2,84	Aceptado	-0,29	Aceptado
Real 2 ^a	20,50 ± 0,22	20,44 ± 0,80	13,65	Aceptado	-0,13	Aceptado
SRM-1643d ^b	42,06 ± 1,05	42,54 ± 0,82	0,92	Aceptado	0,50	Aceptado
LGC-6011 ^b	59,40 ± 1,29	53,90 ± 1,98	2,35	Aceptado	-3,87	Rechazado

(a) $F_{(2,2)}=39$, $t_5=2,57$; (b) $F_{(1,2)}=38,51$, $t_4=2,78$

Como se observa en los resultados del análisis estadístico de la tabla II.13, puede afirmarse que no existen diferencias significativas entre los resultados obtenidos usando rectas de calibración externas o adiciones estándar, a excepción de una de las muestras de referencia. Por esta razón se utilizó la calibración externa para la determinación de manganeso en las muestras de salinidad menor que 1.

Cobre

Para la determinación de cobre en muestras salinas y no salinas mediante su inyección directa en un equipo de espectroscopía de absorción atómica con atomización electrotérmica, se procedió de modo similar al seguido en la determinación de manganeso. En este caso se optó por comenzar introduciendo las dos etapas de secado en las fases de calentamiento del horno, de acuerdo con las observaciones hechas para el manganeso. De este modo, los parámetros bajo los que funcionó el equipo para el análisis de cobre fueron los que se recogen en la tabla II.14.

Tabla II.14. Parámetros de operación de la cámara de grafito para el análisis de cobre.

Etapa	Secado	Secado	Calcinación	Atomización	Limpieza
Temperatura (°C)	100	200	950	1900	2500
Rampa (°C·s ⁻¹)	10	5	150	0	0
Tiempo (s)	40	10	10	3	3

Una vez establecidas las condiciones de trabajo del equipo se pasó a estudiar el sistema más adecuado para la corrección de la absorción de fondo. Para ello se realizó un estudio similar al hecho para el manganeso, pero con algunas modificaciones. En primer lugar, para las muestras no salinas se preparó una recta de calibrado con patrones acuosos que fue analizada utilizando las dos correcciones de fondo disponibles, la lámpara de deuterio y el efecto Zeeman. En el caso de la determinación de cobre en muestras salinas, teniendo en cuenta que la baja concentración de cobre en estas muestras no iba a requerir diluirlas previamente, se decidió aplicar el método de las adiciones estándar a una muestra real de salinidad 35 utilizando ambas correcciones de fondo. Los resultados obtenidos para cada recta se pueden observar en la tabla II.15, y las rectas han sido representadas en la figura II.9.

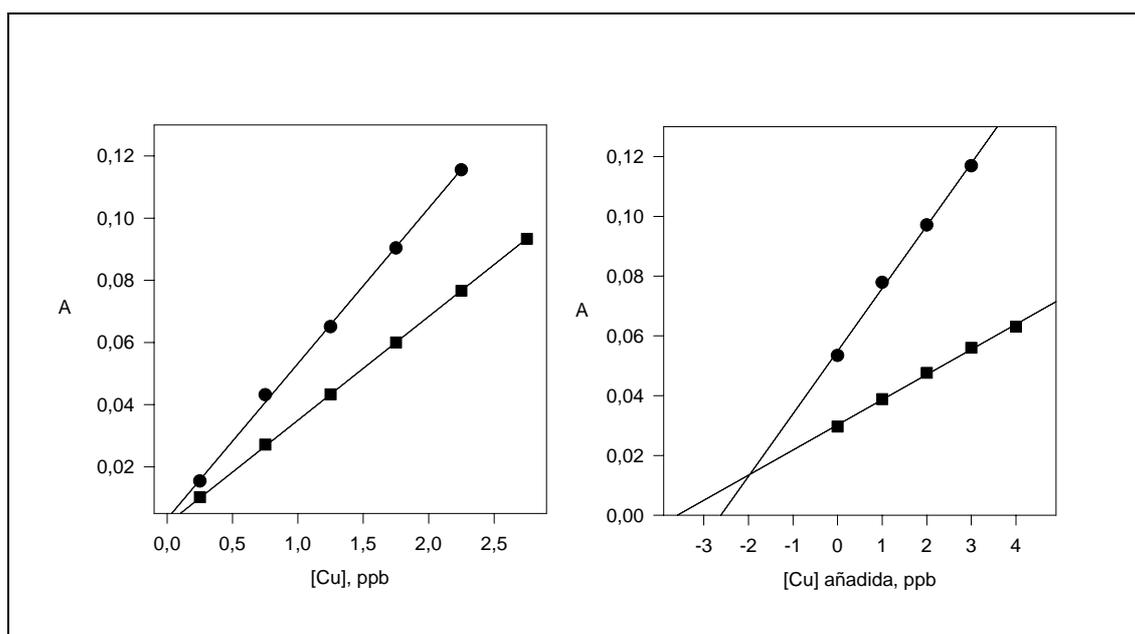


Figura II.9. Rectas de calibrado para el análisis de cobre por GFAAS utilizando la lámpara de deuterio (●) y el efecto Zeeman (■) como corrector de fondo. (a) Patrones con agua milli-Q; (b): Adiciones estándar a una muestra de salinidad 35.

Tabla II.15. Valores de las rectas de calibrado utilizando distinta corrección de fondo.

	Salinidad	Método de calibrado	Corrector de fondo	Ordenada en el origen	Pendiente	R ²
Recta 1	0	Recta externa	Deuterio	0,0033	0,0499	0,9992
Recta 2	0	Recta externa	Zeeman	0,0016	0,0334	0,9999
Recta 3	35	Adiciones estándar	Deuterio	0,0549	0,0209	0,9967
Recta 4	35	Adiciones estándar	Zeeman	0,0302	0,0084	0,9976

Como se ve en la tabla II.15 y al igual que en el caso del manganeso, con ambos métodos se consiguieron buenas rectas de calibración, aunque lógicamente en el caso del efecto Zeeman volvía a presentarse una menor sensibilidad. Esto puede presentar un problema para la determinación de cobre, ya que en la mayoría de las ocasiones su concentración en aguas se encuentra a niveles más bajos que el manganeso. Por otro lado, cuando se trata de las muestras salinas se observa una diferencia en el resultado obtenido cuando se utiliza una u otra corrección de fondo. Por esta razón, aunque parecía adecuado el uso de la corrección por deuterio para conseguir una mayor sensibilidad, era necesario comprobar si el uso de una u otra corrección afectaba al resultado obtenido. Para ello se realizaron determinaciones de cobre en cuatro muestras reales no salinas y en una muestra salina utilizando las dos correcciones de fondo. En la tabla II.16 se puede ver los resultados estadísticos de la prueba t, descrita anteriormente, que se aplica para la comparación de los resultados obtenidos con ambos tipos de corrección.

Tabla II.16. Comparación de las concentraciones de cobre, en $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, determinadas en cuatro muestras reales utilizando dos correcciones de fondo distintas.

	Salinidad	Zeeman	Deuterio	F	Test F	t	Tes t
Real 1	0	1,16 ± 0,06	1,21 ± 0,07	18,67	Aceptado	2,09	Aceptado
Real 2	0	2,38 ± 0,25	2,51 ± 0,10	2,04	Aceptado	4,07	Aceptado
Real 3	0	1,66 ± 0,07	1,72 ± 0,06	14,0	Aceptado	2,74	Aceptado
Real 4	0	2,33 ± 0,06	2,41 ± 0,03	0,32	Aceptado	2,18	Aceptado
Real 5	35	3,60 ± 0,10	2,67 ± 0,08	1,56	Aceptado	13,69	Rechazado

$F_{(2,1)} = 199,5$; $t_4 = 2,78$

A partir de los resultados estadísticos recogidos en la tabla se puede afirmar que no existen diferencias en la determinación de cobre cuando se aplican correcciones de fondo distintas a la determinación de muestras no salinas, sin embargo sí existen diferencias cuando se trata de una muestra salina. En este último caso, para saber qué tipo de corrección es la que consigue un resultado exacto se compararon los valores obtenidos con cada una de ellas con el valor real de la muestra que había sido determinado previamente por voltametría. En la tabla II.17 se recogen las concentraciones de cobre obtenidas en cada caso y el error cometido respecto al valor determinado por voltametría.

Tabla II.17. Concentración de cobre en una muestra de salinidad 35 determinada por voltametría y por horno de grafito usando como correctores de fondo deuterio y efecto Zeeman.

Muestra	Voltametría	Deuterio	ϵ_r	t	Test t	Zeeman	ϵ_r	t	Test t
Real 5	2,48 ± 0,25	2,67 ± 0,08	7,66	0,99	Aceptado	3,60 ± 0,10	45,16	5,78	Rechazado

ϵ_r : error relativo, %; $t_3= 3,18$

Como se puede observar a partir de los resultados de la tabla II.17, la concentración obtenida mediante el corrector de fondo basado en efecto Zeeman muestra un alto error relativo respecto al determinado por voltametría, y la prueba estadística T-student señala que existen diferencias significativas entre ambos resultados para un nivel de significación de 0,05. Por el contrario, cuando se aplica el deuterio como corrector se obtienen resultados significativamente iguales a los obtenidos por voltametría. Para confirmar la exactitud de los resultados obtenidos con la corrección de deuterio y el uso de adiciones estándar para muestras salinas se analizaron otras dos muestras cuya concentración se conocía previamente por voltametría. Los resultados para estas dos muestras se recogen en la tabla II.18, junto al resultado del test estadístico realizado para comparar ambos valores.

Tabla II.18. Comparación de la concentración de cobre, en $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, de dos muestras de salinidad 35 determinada mediante voltametría y horno de grafito con corrección de deuterio.

	Horno	Voltametría	ϵ_r	F	Test F	t	Test t
Muestra 1	2,95 \pm 0,33	3,42 \pm 0,03	-13,7%	121,00	Aceptado	2,04	Aceptado ^(*)
Muestra 2	2,75 \pm 0,08	3,12 \pm 0,37	-11,8%	21,39	Aceptado	1,33	Aceptado

$F_{2,1} = 199,5$; $t_3 = 3,18$; (*) $t_1 = 12,71$

A partir de los resultados de la tabla II.18, donde se confirma que no existen diferencias significativas entre los valores obtenidos con ambos métodos de análisis, se puede asegurar la validez del método de las adiciones estándar con corrección de fondo por deuterio para el análisis de cobre en muestras salinas. Así que se decidió utilizar este tipo de corrección tanto para muestras salinas como para las no salinas, ya que era el que conseguía resultados exactos para las primeras y en cualquier caso mejoraba notablemente la sensibilidad del análisis.

Por otro lado, en vista de los resultados obtenidos para el manganeso que verificaban la posibilidad de utilizar rectas de calibración externas para el análisis de muestras no salinas, se utilizó este método para determinar la concentración de cobre de las muestras de la tabla II.16. No obstante se procedió a confirmar si esta afirmación era válida en el caso del cobre, para lo cual se realizó el análisis de una de las muestras reales no salinas mediante los dos métodos de calibración. La muestra a la que se le aplicó el método de las adiciones estándar fue la que se denomina Real 1 en la tabla II.16. La concentración de cobre determinada mediante el método de adiciones estándar fue $1,18 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, correspondiendo a una diferencia del 2,48 % respecto del valor obtenido mediante la calibración con recta externa. Este hecho permitió que en las muestras no salinas se pudieran realizar las determinaciones de cobre utilizando rectas de calibración basadas en patrones acuosos simples.

A modo de resumen en la tabla II.19 se han reflejado las condiciones, en lo que a tipo de calibración y corrector de fondo se refiere, en las que se han determinado el cobre y el manganeso con el método de espectroscopía atómica por atomización electrotérmica dependiendo de la salinidad de la muestra.

Tabla II.19. Condiciones en las que se ha realizado el análisis de cobre y manganeso dependiendo del metal y de la salinidad de las muestras

	Corrección de fondo	Salinidad	Tipo de calibración
Mn	Zeeman	< 1	Recta externa
		>1	Adición estándar
Cu	Deuterio	<1	Recta externa
		>1	Adición estándar

b. Metales minoritarios

Para el análisis de los metales pesados que se encontraron en concentraciones tan bajas que no permitieron su determinación directa mediante la espectroscopía de absorción atómica con atomización electrotérmica fue necesario realizar primero un paso de preconcentración para cumplir con dos objetivos, por un lado eliminar la matriz salina de las muestras para poder realizar la determinación analítica mediante la técnica de ICP-MS, y por otro lado el disminuir los límites de detección.

El procedimiento de preconcentración se basó en una extracción líquido-líquido en cloroformo, utilizando una mezcla de 1-pirrolidil ditiocarbamato de amonio (APDC) y dietilamonio dietilditiocarbamato (DDDC) como agente extractante. Todo el procedimiento de extracción que se expone a continuación fue realizado bajo condiciones de limpieza, utilizando una campana de flujo laminar para evitar una posible contaminación de las muestras. La preparación de las disoluciones utilizadas se explica detalladamente en el anexo 1 del presente trabajo.

Para realizar la extracción de metales a niveles de ultra-trazas de las muestras de agua se utilizan los embudos de decantación de teflón que han sido previamente lavados siguiendo el protocolo de limpieza ya descrito. Como estos embudos se guardan en ácido nítrico, lo primero que hay que realizar es un exhaustivo enjuagado de los mismos con agua milli-Q para eliminar totalmente el ácido de lavado. Posteriormente se llena cada embudo con 250 mL de agua milli-Q y se lleva a cabo una extracción completa que es desechada antes de proceder a la preparación de las muestras reales y de los blancos de extracción. Una vez realizado este paso se toman mediante pesada 250 g de muestra (o de agua milli-Q en el caso de los blancos). Después se adiciona la suficiente

cantidad de acetato amónico concentrado para ajustar las muestras a pH 4-4,5. Esta disolución de acetato amónico debe ser lo suficientemente básica como para necesitar sólo 1-2 mL para ajustar el pH. Cuando el pH ha sido ajustado se adiciona 1 mL de la disolución de APDC/DDDC al 1% y se agitan los embudos de separación para mezclar las dos disoluciones. En este momento hay que comprobar el pH de la disolución asegurándose que está entre 4-4,5. Posteriormente se añaden 8 mL de cloroformo que ha sido previamente lavado, y se cierra herméticamente el embudo. Se agitan los embudos durante 2 minutos y se dejan separar 5 minutos. Una vez que se ha producido la separación de las fases se vacía lentamente el cloroformo en un frasco de LDPE previamente pesado. Se añaden otros 6 mL de cloroformo al embudo donde se encuentra la muestra y se repite la agitación y separación, añadiendo la fase orgánica a la que se encontraba en el frasco de LDPE. Una vez que todo el cloroformo se encuentra en el frasco se añaden 0,1 mL de ácido nítrico concentrado y se coloca en una zona limpia dentro de una campana extractora, donde se dejan hasta que se haya producido la total evaporación del cloroformo. Cuando esto ocurre se disuelve el residuo añadiendo 5 mL de ácido nítrico 1 N y se pesa para calcular exactamente el factor de preconcentración. Los frascos se tapan y se guardan en el interior de bolsas de plástico nuevas que se conservan en el frigorífico hasta su análisis.

Antes de realizar el análisis de los extractos mediante la técnica de ICP-MS, fue necesario realizar algunos estudios previos para seleccionar las condiciones óptimas en que debían realizarse tanto las preconcentraciones como las determinaciones analíticas. De este modo se ha estudiado la influencia que la zona de preparación de muestras tiene sobre los resultados obtenidos, así como el uso de diferentes elementos para corregir las variaciones en la señal analítica debidas a la matriz de las muestras.

Influencia del área de preparación de muestras

La preconcentración de las muestras que requiere el análisis de los metales traza presentes en las aguas requiere de una exhaustiva limpieza de material, tal y como se acaba de exponer, y del mismo modo es imprescindible realizarla en un ambiente libre de contaminación. Para comprobar cómo influye la contaminación del ambiente se realizaron las preconcentraciones de varios blancos, preparados con agua milli-Q, en dos tipos de áreas de atmósfera controlada. En primer lugar se realizaron las

preconcentraciones en el interior de una campana de flujo laminar con filtro absoluto HEPA que se encontraba ubicada en el laboratorio de análisis que el Departamento de Química Analítica posee en la Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales. El problema de realizar la preparación de la muestra en esta área es que este tipo de campanas no permite llevar a cabo la evaporación de orgánicos, por lo que este paso era realizado en una campana extractora con el consiguiente peligro de contaminación de las muestras. Por esta razón se realizaron preconcentraciones de las mismas muestras en la sala blanca clase 10000 que se encuentra ubicada en el Centro Andaluz de Ciencia y Tecnología Marina de la Universidad de Cádiz (CACYTMAR), y en el interior de una campana de flujo laminar con filtro ULPA (Clase II), especialmente diseñada para permitir la evaporación de disolventes orgánicos en su interior. De este modo todo el proceso de preconcentración podía ser realizado en unas condiciones de atmósfera óptima para evitar la contaminación de las muestras debido a partículas presentes en el aire. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla II.20, presentando el valor medio y la variación estándar obtenidos al realizar diferentes réplicas en distintos días de trabajo. El porcentaje de diferencia que se presenta en la tabla se refiere al valor obtenido en las muestras preparadas fuera de la sala blanca, de modo que un valor positivo de dicha diferencia indica que se ha encontrado una concentración mayor en el blanco preparado fuera de la sala blanca, mientras que un valor negativo de la diferencia indicaría que la concentración mayor se midió en los blancos correspondientes a la sala blanca.

Tabla II.20. Resultados de los blancos de preconcentración.

	Sala Blanca	Campana flujo laminar	% diferencia
[Co], ng·L ⁻¹	60,08 ± 24,4	63,17 ± 9,84	5,14
[Ni], µg·L ⁻¹	0,28 ± 0,11	3,54 ± 1,35	1164,28
[Zn], µg·L ⁻¹	0,31 ± 0,07	0,82 ± 0,30	164,52
[Cd], ng·L ⁻¹	1,00 ± 0,17	3,73 ± 1,20	273,00
[Pb], ng·L ⁻¹	20,30 ± 6,74	30,89 ± 9,57	52,17

Como se observa en la tabla II.20, las concentraciones obtenidas para todos los metales analizados usando la técnica de preconcentración fueron mayores en el caso de los blancos realizados fuera de la sala blanca. Las diferencias fueron tan altas que en el caso del níquel llegaron a ser de órdenes de magnitud, superando más de mil veces la concentración obtenida en la sala blanca. El único metal que presentó diferencias inferiores al 50% fue el cobalto, aunque la notable irreproducibilidad no permite obtener conclusiones sobre este metal. Para el zinc y cadmio las concentraciones medidas fuera de la sala blanca resultaron más del doble de las medidas en campana. Este hecho indica claramente la necesidad de cuidar al máximo la contaminación de la zona de preparación de muestras cuando se quieren determinar metales que se encuentran a niveles tan bajos de concentración.

A la vista de los resultados obtenidos todo el proceso de preconcentración previo a la determinación de metales minoritarios en las aguas del río Guadalquivir se llevó a cabo en la sala blanca del CACYTMAR.

Influencia de la matriz de la muestra

La técnica de ICP-MS es muy sensible a la matriz de las muestras, incluso tratándose de una matriz ácida, por lo que generalmente requiere del uso de un patrón interno que corrija las desviaciones de la señal a lo largo del tiempo. Por esta razón se realizaron diferentes pruebas para establecer cuál era el patrón interno más adecuado para las muestras que se iban a analizar, teniendo en cuenta siempre que fuera un elemento que no estuviera presente en las muestras y cuyo comportamiento en el plasma fuera similar al de aquellos elementos que queremos determinar.

Se probaron como patrones internos y de forma individual los isótopos ${}^6\text{Li}$, ${}^{89}\text{Y}$, ${}^{115}\text{In}$, ${}^{209}\text{Bi}$ y ${}^{165}\text{Ho}$, y además se estudió la posibilidad de realizar las correcciones mediante la interpolación entre dos patrones internos. Para comprobar cuál de estas correcciones era la más adecuada se estudió la variación en la señal de una disolución con concentraciones conocidas a lo largo del tiempo de análisis. En general todos los elementos se comportaron de igual forma frente a las distintas correcciones, a excepción del plomo. Por esta razón se presenta en la figura II.10, a modo de ejemplo del comportamiento general, la variación de la señal de un patrón de $4 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de zinc cuando se utilizan diferentes patrones internos para su corrección, y en la figura II.11 se

muestra la variación de la señal de un patrón de 80 ng·L⁻¹ de plomo.

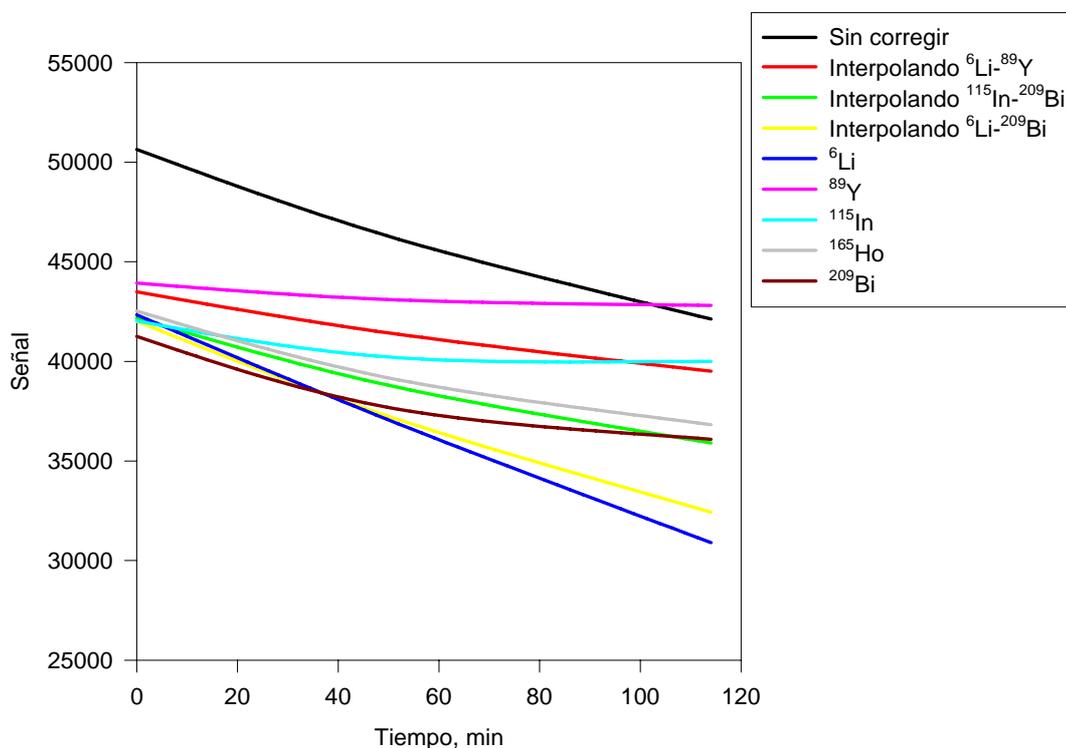


Figura II.10. Variación en la señal de zinc cuando se usan diferentes patrones internos.

Como se observa en la figura, la señal cuando no se usa patrón interno se reduce en un 18% en tan sólo dos horas de análisis. De todos los patrones internos utilizados sólo el ⁸⁹Y y el ¹¹⁵In usados individualmente consiguieron reducir esta variación por debajo de un 5%, llegando en el caso del ⁸⁹Y a una variación de sólo un 2,5 % después de dos horas. El comportamiento del níquel, cobalto y cadmio fue similar, mostrando todos ellos variaciones inferiores al 7% cuando se usaba ⁸⁹Y como patrón interno, por lo que ésta fue la corrección realizada para la determinación de estos metales en los extractos procedentes de la preconcentración.

En el caso del plomo, como se observa en la figura II.11, cuando se utilizaba el ⁸⁹Y como patrón interno seguían existiendo variaciones incluso mayores que cuando no se usaba ninguno. Del resto de elementos utilizados sólo el ²⁰⁹Bi, usado individualmente o para interpolar con otro de los elementos, consiguió reducir la variación de la señal a un 1,5 % después de dos horas de análisis.

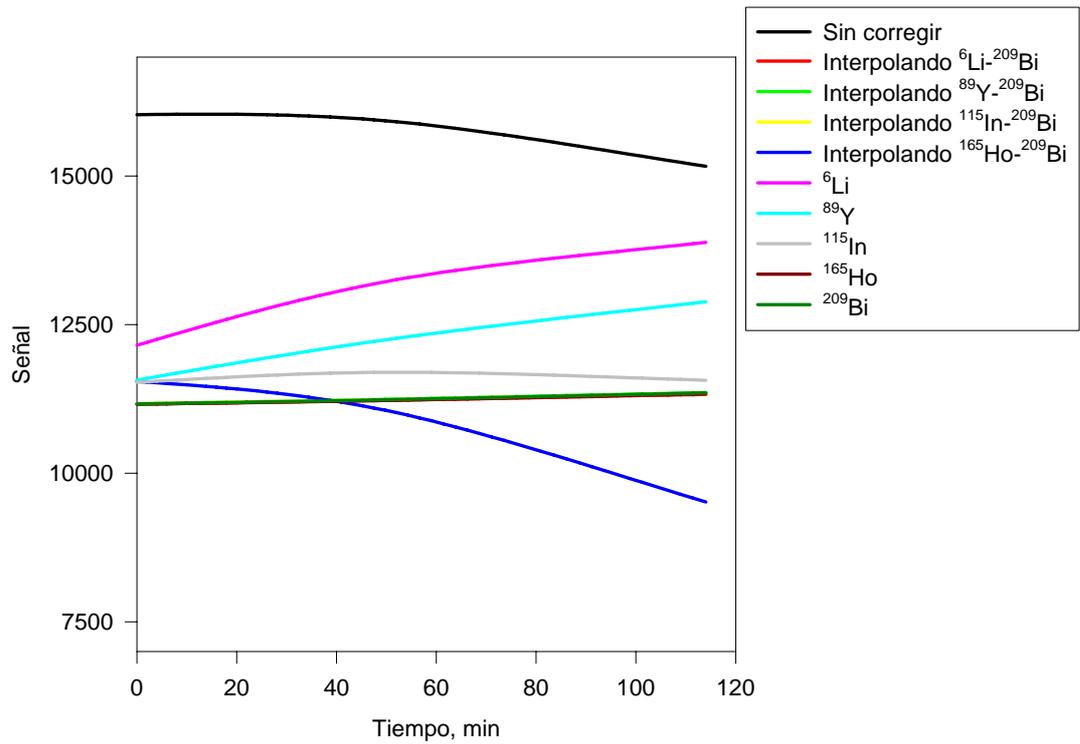


Figura II.11. Variación en la señal de plomo cuando se usan diferentes patrones internos.

En vista de los resultados obtenidos, fue imprescindible el uso de patrón interno para el análisis de los metales minoritarios mediante la técnica de espectroscopía de masas con plasma acoplado inductivamente en las aguas del río Guadalquivir, siendo los elementos elegidos el ^{89}Y para corregir la señal de zinc, cobalto, níquel y cadmio, y el ^{209}Bi para corregir las variaciones en la señal de plomo.

(página en blanco intencionadamente)

CAPÍTULO III.

CARACTERIZACIÓN DEL RÍO GUADALQUIVIR

La cuenca del Guadalquivir es la más extensa y poblada de toda Andalucía y constituye un claro ejemplo de un sistema fluvial afectado por una variedad de actividades antropogénicas. De forma rectangular, se extiende de noreste a suroeste con una longitud de 400 Km y una anchura de 125-200 Km por las provincias de Jaén, Granada, Córdoba, Sevilla, Huelva y Cádiz.

El clima de la zona es de tipo Mediterráneo, con veranos secos y cálidos e inviernos suaves y húmedos, siendo la temperatura media anual de 18°C. Las precipitaciones medias anuales son de 600 mm, y se caracterizan por su irregularidad, localizándose principalmente entre los meses de Diciembre y Abril con un periodo seco de Mayo a Septiembre. Los valores mínimos se localizan en la región de Húésar (300-400 mm) y los máximos, de hasta 2000 mm, se localizan en las zonas montañosas. En la parte central se llegan a alcanzar medias anuales superiores a los 600 mm. (IGME, 1983).

La población asentada en la cuenca asciende a unos 4.500.000 habitantes, de los cuales se localizan en la provincia de Sevilla unos 590.000 habitantes, siendo la agricultura la principal base económica, abarcando un total de 5.000.000 hectáreas. En las áreas de secano destacan la vid, el olivo y los cereales, mientras que en las zonas de regadío se desarrolla el cultivo de frutales, forrajeras, remolacha, horticultura y arroz. En cuanto a la actividad industrial que se desarrolla se encuentra muy relacionada con la

agricultura, destacando el envasado de aceitunas, las almazaras, el refinado y envasado de aceites, las bodegas, etc. Por último, en ganadería se encuentra el ganado vacuno, equino y ovino.

Según la memoria anual de 2003 de la Confederación Hidrográfica del Guadalquivir, la calidad de las aguas puede considerarse, utilizando medias anuales, como buenas y admisibles. Sólo cinco puntos de control presentaron la calificación de inadmisibles, localizándose tres de ellos en la zona del Bajo Guadalquivir, específicamente en el río Guadaira y en el estuario (Confederación Hidrográfica del Guadalquivir, 2004).

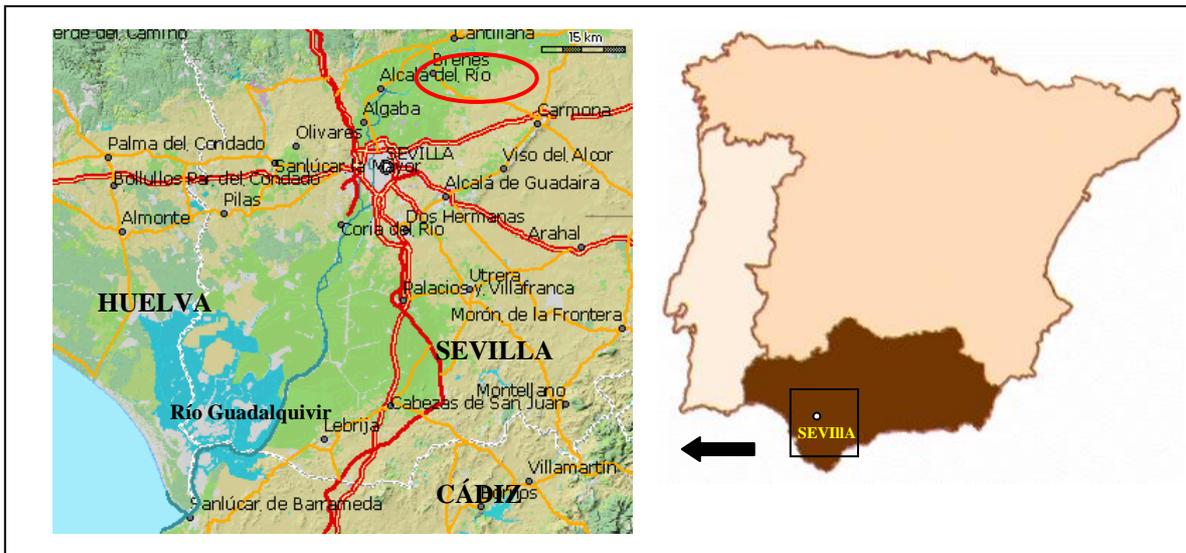
Así pues, teniendo en cuenta que en la zona del Bajo Guadalquivir es donde se localizan los mayores asentamientos urbanos, y se concentran la mayor parte de las actividades agrícolas e industriales, se ha elegido esta zona del río para llevar a cabo la caracterización de sus aguas. Por otro lado, el hecho de que el río es navegable a lo largo de esta zona resulta en una mayor facilidad para realizar la toma de muestras. Además, se añade la particularidad de que la zona estuárica se vio afectada en 1998 por la rotura de una presa de residuos derivados de la minería, por lo que esta parte del río ofrece un gran interés desde el punto de vista de la caracterización de las aguas y su relación con las actividades desarrolladas en la cuenca.

DESCRIPCIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO

El presente trabajo se ha llevado a cabo en un tramo del río Guadalquivir de 113 Km de longitud que abarca desde Alcalá del Río hasta la desembocadura. Como se ve en el mapa 1, a lo largo de este tramo, el río baña las provincias de Sevilla, Cádiz y Huelva, atravesando varios núcleos urbanos entre los que destaca la ciudad de Sevilla.

Entre las actividades desarrolladas en la zona cabe destacar, como ocurre a lo largo de toda la cuenca, la agricultura. Según la distribución espacial de usos y coberturas del suelo en Andalucía, la mayor superficie de los suelos de la provincia de Sevilla se encuentra destinada a los cultivos de secano (49%), seguido de lejos por los cultivos en regadío (13,5%) (Consejería de Medio Ambiente, 2003). En la provincia de Sevilla se produce la totalidad del arroz de Andalucía, concentrándose esta actividad en

una extensa área de marismas del Bajo Guadalquivir. El sistema de explotación de este cultivo es tan eficiente que sus rendimientos sitúan al país entre los principales productores de arroz. Además en Sevilla se localiza casi el 60% de los cultivos bajo acolchado, y unas 32.000 has. dedicadas al cultivo de cítricos, melocotoneros y olivares. Además de las actividades de regadío, la provincia de Sevilla ofrece la mayor superficie de labor intensiva en secano, predominando el trigo, girasol, habas y garbanzos (Consejería de Agricultura y Pesca, 1992).



Mapa 1. Localización de la zona de estudio.

Por otro lado, a las actividades agrícolas que se desarrollan en el Bajo Guadalquivir hay que añadir el desarrollo de actividades portuarias en la ciudad de Sevilla, ya que el río es navegable hasta dicha ciudad. El puerto de Sevilla es el único puerto fluvial-comercial que existe en España, y cuenta con una importante área industrial y de servicios. El tráfico del Puerto de Sevilla se sitúa en torno a los cuatro millones de toneladas anuales, destacando el tráfico relacionado con el sector agrícola (aceites, cereales, abonos, etc), el tráfico de chatarra y productos siderúrgicos y las líneas regulares con las Islas Canarias para contenedores y ro-ro. Además, en la actualidad existe un proyecto de ampliación del puerto que incluye el dragado de una zona del río Guadalquivir, aunque todavía no se ha llevado a cabo.

Hay que señalar también la influencia que una ciudad tan poblada como Sevilla ejerce sobre las aguas del río Guadalquivir. Sevilla cuenta con cuatro estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR), dos de las cuales vierten sus aguas

directamente al río Guadalquivir mientras que las otras lo hacen al río Guadaira, uno de sus afluentes. En numerosas ocasiones el caudal de este río llega a estar formado, casi exclusivamente, por los efluentes procedentes de dichas depuradoras. Como señala Sancho (2001) la cantidad de agua depurada es bastante reducida en comparación con la captada ($73,7$ y $133 \text{ hm}^3 \cdot \text{año}^{-1}$, respectivamente), lo que se debe, entre otros aspectos, al vertido directo de ciertos caudales sin ser depurados. Por otro lado, el reintegro de las aguas ya depuradas a los cauces citados no es del todo idóneo, no por la calidad de la depuración, sino por algunos condicionantes físicos como un relieve especialmente llano, una escasez de caudales circulantes y la influencia de las mareas.

Cabe destacar, en contraste con las múltiples actividades humanas desarrolladas en la zona, la existencia de diversos parajes naturales de alto valor ecológico, entre los que sobresale sin duda el Parque Nacional de Doñana. El Parque de Doñana se encuentra situado en la zona de la desembocadura, y está constituido principalmente por una red de caños y marismas donde se localizan una gran variedad de especies animales y vegetales. Este hecho implica que el Parque y su entorno estén estrechamente relacionados con aguas de origen superficial y subterráneo. En este sentido, Arambi y col. (1996) relacionaron la entrada de mercurio en el parque directamente con el río Guadalquivir y el uso de pesticidas en los campos de cultivo de arroz localizados en sus márgenes.

Evidentemente, todas las actividades desarrolladas en la cuenca, tienen un efecto mayor o menor sobre la calidad del río. En algunos casos el propio poder de autodepuración del río puede anular dicho efecto, pero no ocurre así cuando la magnitud de las actividades es muy alta, y en ese caso, los efectos pueden ser observados en la zona cercana al vertido, o incluso llegar a la desembocadura.

El presente trabajo trata de identificar las posibles fuentes que determinan la calidad de las aguas del río buscando los parámetros físico-químicos que se encuentran afectados por cada actividad en particular. Del mismo modo pretende determinar la extensión de la influencia que las distintas actividades humanas ejercen sobre las aguas superficiales del río Guadalquivir.

Antecedentes

Como se ha expuesto en el apartado anterior, la zona del Bajo Guadalquivir, desde Alcalá del Río hasta la desembocadura, con un mosaico de distintas actividades humanas que abarcan desde la agricultura y la industria hasta el proteccionismo ambiental, constituye un ejemplo ideal para realizar la caracterización de las aguas en relación a los usos de la cuenca. A pesar de ello son escasos los trabajos realizados al respecto en la zona, limitándose la caracterización de las aguas casi exclusivamente a los resultados de la Consejería de Medio Ambiente dentro de su Plan de Policía de Aguas, y a algún trabajo puntual de caracterización, fundamentalmente de aguas subterráneas. A continuación se describen algunos ejemplos significativos.

Fernández y col. (1998) se refieren a la alta contaminación de nitratos que se ha detectado en los últimos años en las aguas subterráneas de muchas áreas del sudoeste español donde se cultiva maíz, relacionándolo con el alto nivel de fertilización usado en estas áreas. En su trabajo exponen cómo una fertilización de sólo un tercio de la usada habitualmente en el área se traduce en una salida de nitratos tres veces menor.

En uno de los acuíferos del sistema Arahal-Paradas-Morón, Villalba y col. (1995) realizaron un estudio sobre la calidad de sus aguas. Este acuífero se alimenta de las aguas del río Guadaira, un afluente del Guadalquivir, y de la infiltración directa de las aguas de lluvia así como, en menor medida, por el agua de irrigación. El área es fundamentalmente agrícola, lo que implica unos altos niveles de nitratos en las aguas del acuífero derivados del uso de fertilizantes, llegando a sobrepasar el nivel de $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en algunos puntos. Esto lo hace no apto para el consumo humano, ya que requeriría de unos costosos tratamientos previos. En cuanto al contenido en metales traza, no presenta valores elevados, aunque en algunos puntos se observan mayores concentraciones de manganeso coincidiendo con áreas directamente afectadas por acumulaciones de residuos sólidos urbanos.

Además, Espigares y col. (1997) concluyen que el carácter agrícola de una zona bañada por el Guadalquivir contribuye a la contaminación del río y sus afluentes debido al uso de pesticidas. Como estas sustancias no son eliminadas a través de un tratamiento de aguas convencional, estos autores consideran que las aguas del río Guadalquivir no deberían ser usadas como una fuente de agua de consumo humano.

Existen también algunos estudios realizados en el Golfo de Cádiz en los que se relacionan los contenidos en metales en las aguas costeras con un origen fluvial. Aunque en dicha zona son los ríos Tinto y Odiel los que constituyen el aporte más importante de metales, la señal de metales debida al Guadalquivir resulta mayor en extensión, pudiendo relacionar este hecho con la extensa área de baja salinidad del estuario del Guadalquivir inducida por unos caudales medios de $79 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ frente al caudal de $18 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ del estuario de Huelva (Braundgart y col., 1998). Gutierrez-Mas y col. (1994) describieron una relación de los contenidos de níquel, cobalto, cadmio, cobre y plomo en los sedimentos de la plataforma continental con aportes procedentes del Guadalquivir, ya que la correlación de muchos de estos elementos con minerales relacionados con el río permite pensar que una parte de estos metales pesados procede de dicha fuente.

Pero ha sido a partir del año 1998, después de la rotura de una presa que almacenaba residuos derivados de actividades mineras en el cauce del Guadiamar cuando mayor interés ha despertado el estudio de la zona. La proximidad del vertido al Parque Nacional, así como a terrenos cultivados, requería la realización de estudios exhaustivos para valorar el impacto global de este accidente sobre el ecosistema. Entre los principales problemas que fueron abordados en estos trabajos se contemplaban la contaminación de los suelos y su remediación, la contaminación de las aguas y los efectos del vertido sobre los organismos de la zona.

López-Parmo y col. (1999) realizaron la caracterización de los suelos afectados y su comparación con los niveles de fondo existentes, así como su evolución antes de ser retirados. En este trabajo se determinó que el vertido cubrió aproximadamente 26 Km^2 de la cuenca del Guadiamar con un volumen de $2 \cdot 10^6 \text{ m}^3$, generando capas de espesor heterogéneo desde unos pocos centímetros hasta casi un metro. El lodo contenía concentraciones de metales extremadamente altas, disminuyendo el contenido en hierro, zinc, cadmio y cobre aguas abajo, mientras que el contenido en plata y plomo aumentó en esa dirección. Aunque los valores de fondo de la zona eran elevados debido a las actividades mineras que se realizaban desde hacía años, el 25% de las muestras tomadas un mes después del accidente mostraron un aumento en las concentraciones de diversos metales respecto al nivel base, con un factor de 5,6 (Zn), 3,6 (Cu), 3,4 (Pb) y 1,5 (As). Por otro lado, los cambios producidos en el lodo generaron la aparición de capas de

sales formadas por sulfatos hidratados, con altos contenidos en metales, que constituían un riesgo potencial de contaminación debido a su alta solubilidad, potencial de oxidación y su capacidad para generar aguas ácidas. Este problema también lo destacan Simón y col. (1999) que aunque no encontraron concentraciones de metales en los suelos superiores a los límites permitidos para suelos agrícolas, indican que existe un peligro potencial en la posibilidad de que se produzca la oxidación de sulfuros a sulfatos y la solubilización de contaminantes que en principio eran insolubles. En este sentido, Alastuey y col. (1999) señala que después del vertido y con la llegada de las lluvias a principios del mes de Mayo ocurrió la oxidación parcial de los sulfuros como resultado de distintos procesos químicos y bacteriológicos que dieron lugar a la formación de una corteza de sulfatos sobre la capa de lodo. Durante el verano, con la erosión del viento una gran parte de la corteza desapareció formando bloques piríticos de baja permeabilidad. En la corteza formada había un enriquecimiento en calcio, cobre, zinc, cadmio, cobalto, manganeso y níquel con respecto al lodo, y estos elementos presentaban una alta movilidad que disminuía al aumentar la profundidad. A finales de septiembre, la llegada de un periodo húmedo originó la disolución parcial de los sulfatos en áreas donde no se había finalizado la remediación de suelos, disolución que podía ocasionar el arrastre de los metales que se encontraban asociados a la corteza formada.

Díaz-Barrientos y col. (1999) relaciona el accidente con la existencia de una clara acumulación de metales en las capas superficiales de suelo que pueden ser movilizados, principalmente el plomo y el zinc, aunque esta acumulación no sobrepasa los 10 cm de profundidad. Sin embargo, para Vidal y col. (1999) el único metal que podría ser fácilmente movilizado, si no se producen cambios ambientales, sería el cadmio y en segundo lugar el zinc. No obstante sugieren la necesidad de la remediación de los suelos agrícolas del área afectada. Una solución propuesta por Cabrera y col. (1999) consistiría en retirar la capa de lodo junto con los 0-20 primeros centímetros de suelo, ya que a medida que aumenta la profundidad se observa una disminución en la contaminación llegando a concentraciones similares a las de fondo. García-Sánchez y col. (1999) proponen distintos métodos para la remediación de los suelos, como la adición de cal, oxihidróxidos de hierro, zeolitas, etc. que contribuyen a retener los metales evitando la contaminación de las aguas. La solución que fue adoptada por las

autoridades competentes fue en primer lugar la construcción de presas que retuvieran el lodo vertido y la desviación de las aguas ácidas hacia el Guadalquivir donde el proceso de dilución en el estuario disminuiría en gran medida su acidez y evitaría así su entrada al Parque Natural. Posteriormente se procedió a la retirada mecánica de los lodos lo más rápidamente posible para reducir la extensión afectada antes de la llegada de las lluvias con objeto de evitar en lo posible el lixiviado de los contaminantes y su introducción en el medio acuático.

Para Benito y col. (2001) las tareas de limpieza fueron efectivas y consiguieron retirar prácticamente todo el lodo, aunque quedaron trazas en forma de una fina capa superficial. Este hecho, junto a los cambios producidos en la llanura Agrio-Guadiamar debido a la maquinaria pesada utilizada en la limpieza posibilitan la removilización de los restos de lodo debido a los reajustes de los canales del río y a los caudales naturales. De este modo, las tareas de limpieza del río Guadiamar transfirieron el problema a dos frentes distintos. Por un lado existían grandes áreas principalmente en la parte alta del río donde el lodo planteaba una amenaza ambiental. Y por otro lado, la retirada del lodo significó la movilización de miles de toneladas de residuos junto con sedimentos y suelos de la zona alta, con el cambio de la configuración natural del río y aumentando drásticamente la susceptibilidad de la erosión. Uno de los remedios propuestos en este trabajo consistió en utilizar vegetación espesa como trampas de sedimentos que actuaría disminuyendo la capacidad de erosión de la corriente y favoreciendo la deposición por su efecto de filtro.

Achterberg y col. (1999) indican que el lodo fue retirado para que no accediera al Parque Nacional desviándolo hacia el Guadalquivir, donde entró aproximadamente a unos 20 Km de su desembocadura. Sus efectos llegaron hasta cerca de la ciudad de Sevilla, como consecuencia de la acción de las mareas, como se puede concluir a partir de las concentraciones de cobre y zinc en una zona intermedia del río. En el trabajo se comparan valores de metales en las aguas del río antes y después del accidente. Muchas de las concentraciones de metales que aumentaron en las aguas tras la rotura de la presa recuperaron sus niveles anteriores después de unos meses, aunque no ocurrió así en el caso del manganeso y el zinc, que en octubre de 1998 todavía presentaban valores más elevados de lo normal. Por otro lado, la monitorización de las aguas del golfo de Cádiz no muestra un aumento de concentración en la pluma del Guadalquivir después del

vertido. Esto sugiere que tuvo poca importancia para las aguas costeras próximas probablemente debido a las condiciones de sequía de la época. Van Geen y Chase (1998) proponen la concentración de zinc disuelto como indicador del camino seguido por el agua contaminada, detectando que dicha concentración aumenta desde $4,8 \cdot 10^{-8} \text{M}$ al sur de Sevilla hasta un máximo de $7,9 \cdot 10^{-5} \text{M}$ a unos 15 Km de la costa. Este hecho parece sugerir que la masa metálica entró en el Guadalquivir a unos 37°N a pesar de que más al norte existían diversos canales y efluentes que podrían haber proporcionado una vía de entrada. Para Palenques y col. (1999) el zinc representa también el mejor trazador de la contaminación en sedimentos y materia en suspensión debido a su rápida lixiviación. Aunque la mayor proporción de metales llegó al estuario en forma disuelta los cambios drásticos de pH en la confluencia de las aguas del vertido con las estuáricas precipitaron el zinc disuelto enriqueciendo en este metal la materia suspendida y los sedimentos. Además, los procesos mareales causan una continua resuspensión y deposición de materia en suspensión contaminada que se encuentra en cierto modo retenida principalmente en la zona de máxima turbidez. Esta materia es susceptible de interaccionar con la fauna bentónica y planctónica ocasionando alteraciones en los organismos de la zona. Según Van Geen y col. (1999) la disminución en zinc disuelto producida en el estuario unas semanas después del vertido estaría relacionada también con su precipitación al aumentar el pH. Aún así, las concentraciones de zinc disuelto en la desembocadura del Guadalquivir fueron de un orden de magnitud mayor que los niveles previamente registrados en la zona.

Gómez-Parra y col. (2000) realizan un estudio del comportamiento de los metales disueltos y particulados en el estuario del Guadalquivir después de la rotura de la presa. En ambos casos el comportamiento fue similar, con concentraciones máximas en la zona de baja salinidad presentando un comportamiento no conservativo asociado con procesos de co-precipitación o adsorción sobre partículas en suspensión en el caso de los metales en fase disuelta, y con procesos de dilución en el caso de los metales particulados. Estos autores atribuyen el alto contenido de cadmio y zinc en las aguas, sólidos en suspensión y sedimentos del estuario con el accidente ocurrido en la mina, ya que el enriquecimiento en estos metales se detecta en la confluencia del río Guadiamar con el Guadalquivir. Estos resultados se ven reforzados por el trabajo de Riba y col. (2002) enfocado al estudio de las concentraciones de cobre, cadmio, zinc y plomo en

distintas fracciones de los sedimentos del estuario del Guadalquivir. Tras un tratamiento multifactorial de los datos, éstos son reducidos a cinco factores, estando uno de ellos asociado a las concentraciones de cadmio y zinc que sugiere una fuente de contaminación asociada con el accidente minero que afectó a los sedimentos superficiales del estuario. Sin embargo, el factor más representativo se asocia a una fuente de contaminación de cobre relacionada con la matriz geoquímica, principalmente con compuestos de hierro, y no con la rotura de la presa. Las concentraciones de plomo tampoco estarían asociadas al vertido de la mina, aunque no existen tendencias claras que definan su comportamiento.

Las aguas subterráneas de la zona fueron también afectadas por el vertido, detectándose concentraciones anómalas de zinc, manganeso, plomo, cobalto, cadmio y talio. Sin embargo el contenido de cobre no se relacionó con el vertido, sino con la contaminación producida por los pesticidas y las actividades mineras que se han venido realizando históricamente en la zona. Afortunadamente el carácter básico de las rocas que constituyen el acuífero tamponó el pH ácido del vertido, y su relación con la contaminación metálica fue sólo evidente en algunos pozos. Excepto en estos pozos el contenido metálico disminuyó con el tiempo hasta alcanzar valores próximos a los normales, aunque hay que pensar que la disminución del nivel freático en las estaciones secas puede dejar al descubierto sulfuros en las paredes de los pozos cuya erosión puede contribuir a aumentar las concentraciones metálicas (Manzano y col., 1999).

Otro de los problemas que planteó el vertido fue el efecto que tendría sobre los organismos. Blasco y col. (1999) encuentran elevadas concentraciones de zinc en el ostión (*Crassostrea angulata*), y en general, mayores contenidos metálicos en los organismos del estuario en comparación con los procedentes de un lugar de referencia. Del mismo modo Suñer y col. (1999) encuentran contenidos altos de arsénico inorgánico en la coquina de fango (*Scrobicularia plana*) y el cangrejo violinista (*Uca tangeris*) debido a que habitan en el sedimento e ingieren partículas sedimentarias en su alimentación. El problema es que la ausencia de datos antes del vertido hace imposible establecer el efecto que éste ha tenido sobre la fauna. Sólo especies como la *S. plana*, que se consume intensamente por la población, supera el máximo tolerado para la ingesta de arsénico indicada por la FAO. Por otro lado las comunidades que habitaban el estuario sufrieron modificaciones debido a la entrada de agua dulce del vertido, que

tuvo un efecto similar a un aumento de caudal del río (Drake y col, 1999). Según Prat y col. (1999) a estos cambios contribuyeron además las actividades de limpieza, que redujeron la diversidad de los habitantes del río especialmente debido a la construcción de presas que lo convirtieron en una sucesión de estanques. En este estudio se presentan además resultados que indican un aumento en los contenidos metálicos de los organismos, aunque no existe bioacumulación. Este hecho se debe a que los metales no se encuentran en forma biodisponible, de modo que circulan por el tubo digestivo del organismo pero no son asimilados.

Como puede desprenderse de este breve repaso por los estudios realizados en la zona del Bajo Guadalquivir, no existe hasta el momento una caracterización completa de las aguas del río. Del mismo modo, los trabajos desarrollados en la zona se han centrado en aspectos concretos, desarrollándose principalmente en la zona de la desembocadura o en determinados acuíferos. Con la presente tesis se trata de ampliar el conocimiento de las aguas del río Guadalquivir desde el punto de vista de la influencia que el hombre está ejerciendo sobre ellas. A continuación se presentan detalladamente los pasos seguidos en este trabajo para alcanzar el objetivo propuesto.

ESTABLECIMIENTO DE LAS ESTACIONES Y FRECUENCIA DE MUESTREO

Una vez determinada la zona de estudio se pasó a decidir los puntos de toma de muestra a realizar en el río. La selección de las distintas estaciones de muestreo a lo largo del río Guadalquivir se llevó a cabo teniendo en cuenta diversos aspectos.

1. Usos del suelo a lo largo de la cuenca.

Pensando en que uno de los objetivos del presente trabajo es relacionar la calidad de las aguas del río con las diferentes actividades desarrolladas en la cuenca, se intentó seleccionar puntos en los que la influencia antropogénica fuera de diverso origen, abarcando además, en lo posible, la totalidad de las actividades desarrolladas. Así se eligieron estaciones de muestreo en zonas predominantemente urbanas, agrícolas o industriales, con el fin de poder establecer qué elementos

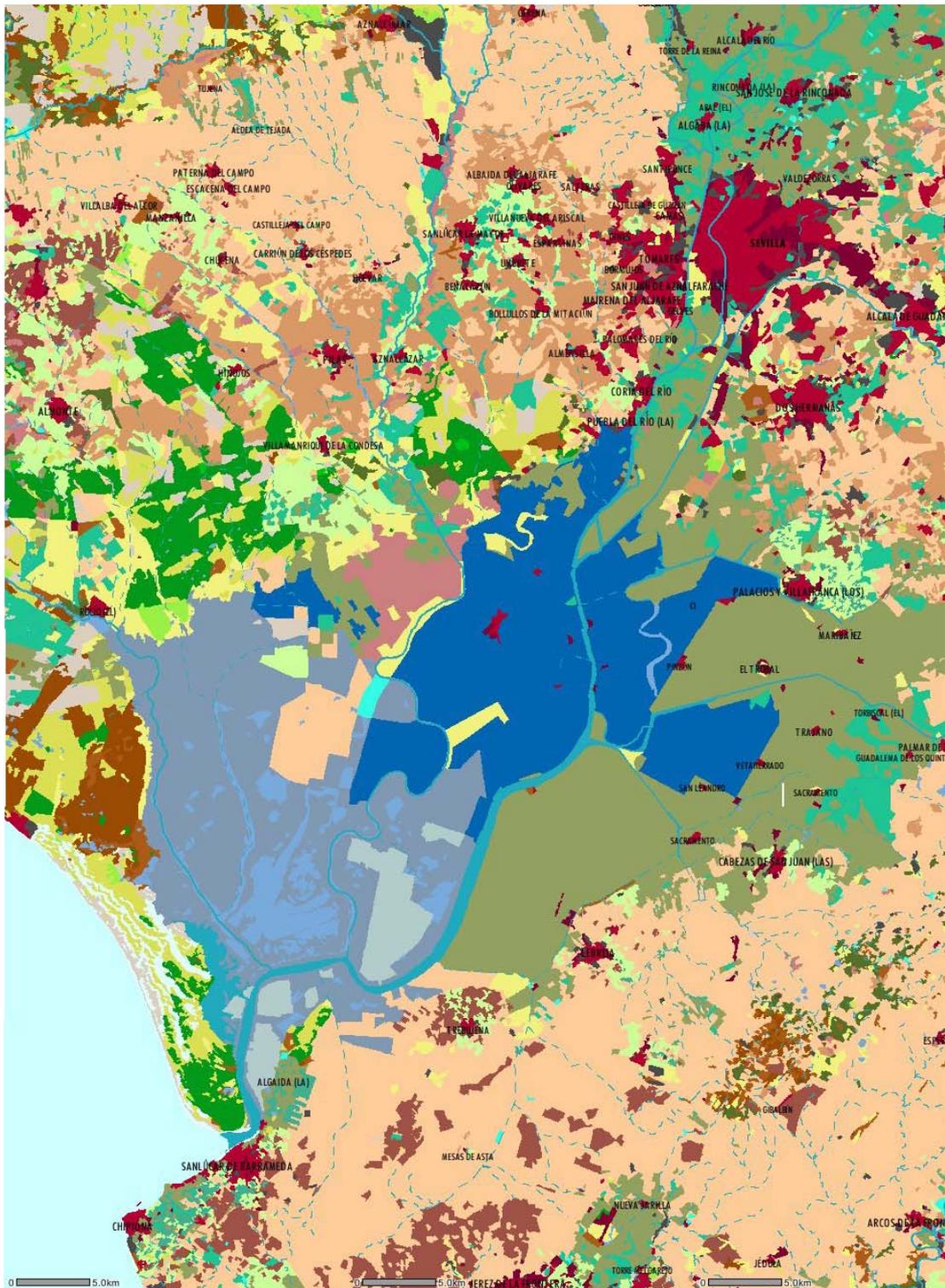
podrían servir como trazadores de determinada actividad en la cuenca. La caracterización de la zona desde el punto de vista de los usos del suelo se recoge en el mapa 2 (Consejería de Obras Públicas y Transportes, 1998)

2. Salinidad.

Este criterio se aplicó en la zona estuárica, considerando como tal aquella en la que la salinidad superaba ya el valor de 1. La utilidad de usar este criterio para realizar la toma de muestra en esta zona radica en el hecho de que la salinidad es un parámetro que depende única y exclusivamente del grado de mezcla de las aguas del río y las del mar, es decir, posee lo que se denomina un comportamiento de tipo conservativo. Así, lo ideal para realizar el estudio de las aguas de un estuario es determinar cuál es la concentración de cada variable objeto de estudio para cada salinidad pudiendo establecer si el comportamiento de un elemento es o no conservativo, es decir, si la variación de su concentración se debe o no únicamente a la mezcla del agua de mar con el agua de río. De este modo se puede determinar si el origen de dicho elemento se debe a factores externos, como la actividad antropogénica en el río, o a la propia naturaleza de las aguas fluviales que llegan al estuario.

Legenda del mapa 2.





Mapa 2. Mapa de usos del suelo de la zona del río Guadalquivir objeto de estudio.

3. Disponibilidad de información previa.

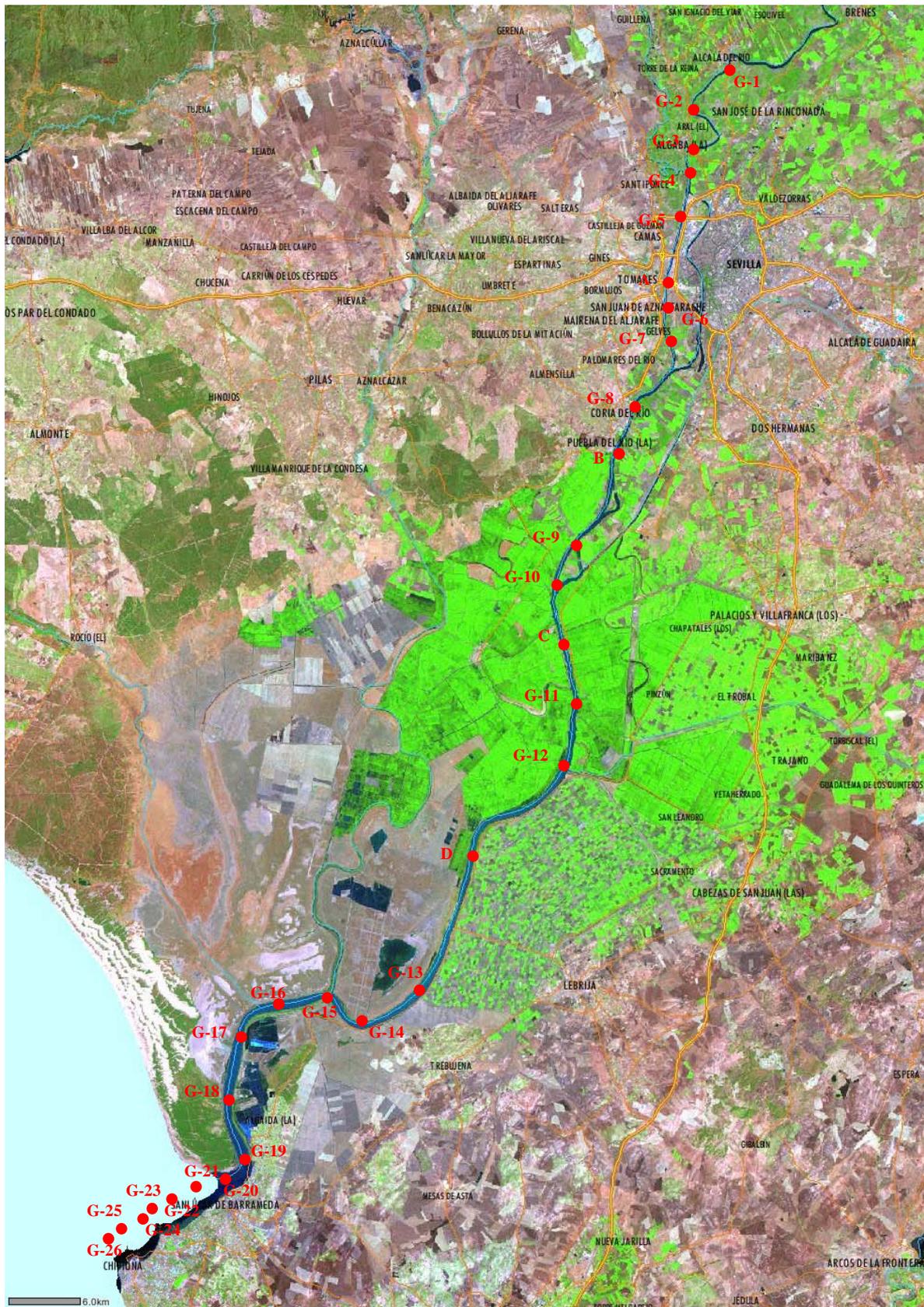
Una vez tenidos en cuenta los dos criterios anteriores, existían diversos puntos de muestreo en los que cabía esperar la aparición de características similares. En este caso se seleccionó uno de ellos aplicando este tercer criterio, ya que el contar con información previa permite establecer relaciones y variaciones en las concentraciones de los distintos parámetros a lo largo de un amplio periodo de tiempo. Por esta razón, en muchos casos los puntos muestreados coinciden con los que forman parte de la red de muestreo del Plan de Policía de Aguas de la Junta de Andalucía.

Desde el punto de vista práctico, para la primera campaña de muestreo se eligieron 20 puntos de toma de muestra que, como ya se ha comentado, coincidían con los que forman parte del Plan de Policía de Aguas de la Consejería de Medio Ambiente para, en posteriores campañas, eliminar algunos de ellos que por sus características no aportaban información fundamental para el trabajo y añadir otros adicionales.

Por lo que respecta a la zona estuárica se distribuyeron las estaciones de toma de muestra de forma que abarcaran el rango completo de salinidad (0-35). Por esa razón la posición exacta de las estaciones comprendidas entre estos dos puntos varió de una toma de muestras a otra dependiendo principalmente del estado de la marea (creciente o vaciante) y del caudal del río.

Finalmente se estableció la frecuencia de la toma de muestras. En este sentido, y como se ha visto en la introducción de la presente Tesis, uno de los parámetros ambientales que puede influir notablemente en las características de las aguas del río, y que por tanto debe tenerse en cuenta, es el caudal del mismo. Así se decidió realizar dos muestreos anuales a lo largo de tres años consecutivos, uno de ellos en el mes de abril, coincidiendo con la época de lluvia y por tanto de alto caudal del río, y otro al finalizar el verano, durante el mes de octubre, coincidiendo con la época de bajo caudal.

Las estaciones de muestreo elegidas se representan en el mapa 3, y sus coordenadas exactas se recogen en la tabla III.1 junto con los muestreos en los que se realizó la recogida de agua en cada punto.



Mapa 3. Posición de las estaciones de muestreo en el río Guadalquivir.

Tabla III.1. Posición de las estaciones de muestreo y a qué toma de muestras corresponde

MUESTRA	LATITUD	LONGITUD	REALIZADA TOMA					
			Toma 1	Toma 2	Toma 3	Toma 4	Toma 5	Toma 6
G-1	37° 30' 43,8''	05° 58' 43,2''	X	X	X	X	X	X
G-2	37° 28' 04''	05° 58' 58,5''	X	X	X	X	X	X
G-3	37° 27' 26,1''	06° 00' 30,9''	X	X	X	X	X	X
G-4	37° 26' 26,7''	06° 00' 22,6''	X	X	X	X	X	X
G-5	37° 25' 17,9''	06° 00' 34,9''	X	X	X	X	X	X
G-6	37° 21' 12,9''	06° 01' 21,7''	X	X	X	X	X	X
G-7	37° 20' 06''	06° 01' 13,3''	X	X	X	X	X	X
G-8	37° 16' 37,6''	06° 03' 04,3''	X	X	X	X	X	X
G-9	37° 11' 24,8''	05° 05' 50,6''	X	X	X	X	X	X
G-10	37° 10' 14,8''	06° 06' 20,8''	X	X	X	X	X	X
G-11	37° 06' 33,1''	06° 05' 11,8''	X	X	X	X	X	X
G-12	37° 03' 34,0''	06° 05' 25,6''	X	X	X	X	X	X
G-13	36° 57' 21,5''	06° 10' 51,3''	X	X	X	X	X	X
G-14	36° 53' 50,9''	06° 15' 53,1''	-	-	-	X	-	-
G-15	36° 54' 44,1''	06° 16' 32,9''	X	X	X	X	X	X
G-16	36° 54' 19,6''	06° 18' 34,7''	-	-	-	X	-	-
G-17	36° 54' 06,1''	06° 20' 01,7''	X	X	X	-	X	X
G-18	36° 52' 1,62''	06° 21' 14,3''	-	-	-	X	X	-
G-19	36° 51' 22,8''	06° 20' 23,4''	-	X	-	-	-	-
G-20	36° 49' 10,9''	06° 20' 95,4''	-	-	-	X	-	-
G-21	36° 48' 30,2''	06° 20' 23,4''	X	X	X	-	X	X
G-22	36° 47' 36''	06° 20' 48,6''	-	-	X	X	-	-
G-23	36° 47' 18,1''	06° 21' 56,1''	-	-	-	X	X	X
G-24	36° 46' 31,6''	06° 24' 9''	-	X	-	X	X	X
G-25	36° 46' 0,1''	06° 25' 33,1''	-	X	X	X	X	-
G-26	36° 45' 10,2''	06° 20' 44,3''	-	-	X	-	-	-

Hay que señalar que durante el primer muestreo se tomaron cuatro puntos adicionales, marcados en el mapa 3 con letras, que se eliminaron posteriormente por considerar que no aportaban ninguna información adicional al ser muy semejantes a las estaciones más próximas. La localización de estos cuatro puntos se muestra en la tabla III.2.

Tabla III.2. Estaciones de muestras adicionales durante el primer muestreo.

MUESTRA	LATITUD	LONGITUD	REALIZADA TOMA					
			Toma 1	Toma 2	Toma 3	Toma 4	Toma 5	Toma 6
A	37° 23' 15,8''	06° 01' 06,5''	X	-	-	-	-	-
B	37° 15' 42,3''	06° 03' 33,2''	X	-	-	-	-	-
C	37° 08' 48,6''	06° 06' 00,9''	X	-	-	-	-	-
D	37° 01' 26,9''	06° 09' 12,0''	X	-	-	-	-	-

Descripción de las estaciones de muestreo

Las características de cada estación de muestreo desde el punto de vista de los usos del suelo se han obtenido a partir de la distribución espacial de los usos y coberturas vegetales de Andalucía y a partir del Atlas de Andalucía (Consejería de Medio Ambiente, 2003; Consejería de Obras Públicas y Transportes, 1998). Así mismo se ha utilizado el inventario de vertidos al litoral de Andalucía (Consejería de Medio Ambiente, 1997) , aunque esta última fuente es algo antigua, por lo que en muchos casos es posible que existan vertidos nuevos que no estén recogidos y que hayan desaparecido otros que sí estaban contemplados en este inventario. Hay que señalar que en los últimos años se ha mejorado y ampliado la red de tratamiento de las aguas residuales de la zona de Sevilla, pudiendo destacar la puesta en funcionamiento de la EDAR de Palomares, la cual recibe las aguas residuales de Coria del Río, durante el segundo año de desarrollo del presente trabajo.

G-1: Alcalá del Río

Este es el primer punto de muestreo elegido, tratándose de la zona más alta del río que permite el acceso con barco desde la desembocadura, ya que aquí se localiza el embalse de Alcalá del Río, que puede verse en la fotografía. Este punto recibe vertidos urbanos de la población de Alcalá del Río, aunque la mayor parte de la superficie de este municipio se destina a actividades agrícolas (84,27%), destacando las áreas destinadas a regadíos (81,37%) con el algodón como principal cultivo.



G-2: La Rinconada

Esta zona recibe los vertidos urbanos procedentes de San José de La Rinconada y siguen siendo importantes los cultivos extensivos de invierno y los cítricos, destinando más del 90 % de su superficie a la agricultura. Además en la zona se encuentra una industria azucarera.

G-3: La Algaba

De nuevo la actividad predominante en la zona es la agricultura, destinándose casi en su totalidad a regadío. Los cultivos predominantes en la zona son los cítricos en la margen izquierda y los extensivos de invierno en la margen derecha.

También en este punto existen pequeños vertidos urbanos.

G-4: Rivera de Huelva

A este punto llega el afluente Rivera de Huelva, que se puede ver en la fotografía, y siguen siendo relevantes los cultivos de cítricos y los extensivos de invierno. Es el último punto de muestreo antes de la ciudad de Sevilla.



G-5: Arroyo del Tamarguillo

A la altura de este punto llegan las aguas del Arroyo del Tamarguillo, donde se sitúa la estación depuradora de aguas residuales (EDAR) San Jerónimo. Esta EDAR, cuyas instalaciones aparecen en la fotografía, depura las aguas procedentes de la zona Norte de Sevilla y de la Isla de La Cartuja, teniendo una capacidad de 350.000 habitantes-equivalentes¹ y un caudal de 90.000 m³·día⁻¹ (www.aguasdesevilla.com). Esta zona se caracteriza por ser, prácticamente en su totalidad, urbana e industrial con pequeñas explotaciones agrícolas destinadas al cultivo de frutales.



A: Puente del Patrocinio

Esta zona sigue presentando un carácter urbano e industrial, con pequeñas explotaciones agrícolas destinadas al cultivo de frutales. Este punto fue eliminado después del primer muestreo por considerar que el anterior y posterior identificaban con claridad las características urbanas de la ciudad de Sevilla.

G-6: San Juan de Aznalfarache

Este punto se encuentra igualmente en una zona de gran actividad urbana e industrial, con más de la mitad de su superficie cubierta por zonas edificadas. Aquí

¹ Habitante-equivalente: la carga orgánica biodegradable con una DBO₅ de 60 g de oxígeno por día (Directiva 91/271/CEE)

existe una importante industria arrocera, que se muestra en la fotografía. La agricultura desarrollada en la zona se concentra en forma de pequeñas huertas.



G-7: Gelves

Lo más destacable de este punto de muestreo es que recibe los vertidos de la EDAR Tablada. Esta EDAR depura las aguas de la zona oeste de Sevilla (Chapina, Los Remedios y Triana) y tiene una capacidad de 200.000 habitantes-equivalentes y un caudal de $50.000 \text{ m}^3 \cdot \text{día}^{-1}$ (www.aguasdesevilla.com). Además en el municipio de Gelves se encuentra un puerto deportivo que se puede observar en la siguiente fotografía, y que sirve de zona de amarre a la embarcación usada en este trabajo. Los cultivos son escasos, predominando los de regadío.



G-8: Coria del Río

Durante el primer año de muestreo existían vertidos urbanos sin depurar en esta zona, aunque se redujeron con la conexión a la depuradora de Palomares en el año 2001. La agricultura se centra en los cítricos en la margen derecha del río y en extensivos de invierno en la margen izquierda, y aunque esta actividad es bastante extensa en el municipio, la zona más próxima al río es predominantemente urbana, como puede observarse en la fotografía contigua, en la que aparece igualmente un foco de vertido al río.



B: Puebla del Río

El municipio de Puebla del Río se extiende por una amplia zona que atraviesa el río Guadalquivir, y que abarca las estaciones de muestreo comprendidas entre ésta y la G-13, y más concretamente la zona situada a lo largo de la margen derecha del río. Justo en este punto, se localiza el núcleo urbano, por lo que a pesar de que una gran parte del municipio se dedica a la actividad agrícola ésta carece de significación en esta estación de muestreo. Además de recibir vertidos de origen urbano existe una industria arrocerá (arrocerá del Bajo Guadalquivir) y dos astacifactorías, instalaciones dedicadas a la cría del cangrejo de río.

G-9: Los Olivillos

En esta estación se localiza la Isla de los Olivillos, donde ya no existen asentamientos urbanos importantes y se caracteriza por los cultivos de arroz propios del municipio de Puebla del Río, y que abarcan una gran superficie de dicho municipio (53,6%). Este punto sirve además como control antes de la desembocadura del río Guadaira.

G-10: El Mármol

Este punto de muestreo corresponde a la desembocadura del río Guadaira, en la fotografía, uno de los afluentes del Guadalquivir de mayor importancia en la zona de estudio y que trae vertidos urbanos tratados procedentes del área metropolitana de Sevilla. Concretamente a él vierte la EDAR Ranilla, que depura las aguas de la zona este de Sevilla y de Alcalá de Guadaira. Esta EDAR tiene una capacidad de 200.000 habitantes-equivalentes y su caudal es de $50.000 \text{ m}^3 \cdot \text{día}^{-1}$. A este río llega también el efluente de la EDAR El Copero, donde se incorporan los vertidos de la zona sur de Sevilla y de Dos Hermanas. Esta EDAR es la mayor de la zona, con una capacidad de 950.000 habitantes-equivalentes y un caudal de $255.000 \text{ m}^3 \cdot \text{día}^{-1}$ (www.aguasdesevilla.com). Durante la época seca el caudal del río está formado, prácticamente en su totalidad, por las aguas vertidas por ambas depuradoras. En esta zona siguen siendo importantes los cultivos de arroz.



C: Casa Bomba El Marqués

Esta estación se sitúa en una zona dedicada en su totalidad al cultivo de arroz. Se encuentra muy cercana, aguas abajo, a la desembocadura del Guadaira, por lo que, junto a la estación G-9, permite realizar el control de los efectos producidos por dicho río.

G-11: Corta de Los Jerónimos

A este punto llega el llamado Brazo de los Jerónimos. Se trata de una zona de arrozales y tiene cierta influencia urbana debido a la proximidad de la localidad de Villafranca.

G-12: Brazo del Este

Esta zona sigue caracterizada por los cultivos de arroz, aunque en este caso se encuentra ya en la margen derecha el municipio de Lebrija, con otro tipo de cultivos herbáceos de regadío. En este punto desemboca el Brazo del Este.

D : La Mata

A lo largo de la margen izquierda se produce el cambio de la zona de arrozales al Parque Natural, mientras que en la margen opuesta encontramos aún cultivos extensivos de invierno.

G-13: Tarfia

En este punto se localiza, en la margen derecha, la división entre la provincia de Cádiz y Sevilla. Sigue existiendo una fuerte influencia del sistema de regadío de Lebrija.

Zona Estuárica

El grupo de estaciones de muestreo correspondientes a la zona estuárica del río, abarca desde G-14 hasta G-26, y en ellas se realiza su selección por salinidades, intentando cubrir en cada muestreo todo el intervalo (0-35). Pero además de este criterio basado en la salinidad algunas de las estaciones correspondientes a esta zona presentan características particulares que las hacen interesantes para el presente estudio. Entre ellas pueden mencionarse las siguientes:

G-15: El Puntal

En este punto se localiza, en la margen izquierda del río, la desembocadura del Brazo de La Torre. A través de este brazo se produjo la entrada en el río Guadalquivir de aguas contaminadas por residuos mineros procedentes de la rotura de la balsa de decantación de las minas de Aznalcóllar en el año 1998. Esta zona se caracteriza por su red de caños y marismas, muchos de los cuales constituyen ya parte del Parque Nacional de Doñana.

G-17: Caño Brenes

Esta zona se puede considerar prácticamente en su totalidad como marismas y humedales. El caño Brenes actúa como frontera natural entre las provincias de Huelva y Sevilla.

G-21: Sanlúcar de Barrameda

En este punto de muestreo se localiza el último núcleo urbano que se sitúa en las márgenes del río, en este caso en la derecha, como puede verse en la fotografía.. Aunque el municipio posee grandes extensiones de cultivo éstas se localizan hacia el interior de la provincia, pudiendo considerar que la actividad que influye de forma directa en el río es la urbana. Por otro lado, al encontrarse ya en la desembocadura del río Guadalquivir la naturaleza de las muestras será muy similar al agua de mar.



Una vez descrita cada una de las estaciones de muestreo elegidas para realizar la caracterización de las aguas del río Guadalquivir se exponen detalladamente las características de cada una de las tomas de muestra, incluyendo fechas de realización, características pluviométricas y caudales del río.

Descripción de las tomas de muestra

Debido a la complejidad propia que la toma de muestras presentaba y a la longitud del tramo del río Guadalquivir que ha sido estudiado, fue imposible realizar la toma de muestra durante un mismo día. Por ello cada una de las tomas de muestra se realizó en tres días consecutivos, siempre que las condiciones climatológicas así lo permitieron. Uno de los días se muestreaban las estaciones correspondientes al tramo más alto del río, desde la G-1 hasta la GQ-10, otro día se realizaba la toma en las estaciones comprendidas entre la G-11 y G-13, y finalmente se utilizaba otro de los días para realizar la toma de muestras en la parte estuárica del río, desde la G-14 hasta la G-26. Se dio especial importancia a esto último, es decir, a la toma de las estaciones estuáricas en el mismo día, para poder establecer una relación entre los parámetros analizados y la salinidad de las muestras con la mínima influencia del estado de la marea.

A continuación se presentan las características de cada una de las tomas de muestra realizadas en el río Guadalquivir. Los datos correspondientes a precipitaciones y caudales han sido obtenidos del Ministerio de Medio Ambiente (www.mma.es).

Toma 1. Marzo de 2001

Esta toma de muestra se realizó durante los días 19, 20 y 22 del mes de marzo de 2001. Las precipitaciones medias mensuales fueron de 26,47 mm, y las correspondientes a la semana en la que se realizó la toma fueron de 12,40 mm. El caudal del río en Alcalá del Río durante esa semana tuvo un valor medio de $79,01 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$, y el caudal medio mensual fue de $132,1 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$.

Toma 2. Octubre de 2001

Durante este mes se realizó la toma de muestra en los días 23, 24 y 25. Durante este periodo no se registraron precipitaciones, aunque la media mensual fue de 17,82

mm. En cuanto a los caudales en Alcalá del Río, se registró un valor medio mensual de $25,20 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$, siendo el valor medio semanal correspondiente al periodo de muestreo de $29,41 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$.

Toma 3. Abril de 2002

Esta tercera toma se efectuó durante los días 22, 23 y 24 de abril de 2002. Las precipitaciones medias mensuales durante esta toma fueron de 11,8 mm, aunque no se registraron precipitaciones durante la semana correspondientes a la toma de muestras. Los caudales medidos en Alcalá del Río presentaron un valor medio para el periodo de $39,70 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$, con un caudal medio mensual de $48,90 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$.

Toma 4. Octubre de 2002

Esta toma se realizó durante los días 14, 15 y 16 del mes de octubre de 2002. Las precipitaciones medias mensuales fueron de 4,12 mm, y durante la semana de toma de muestras se recogieron 0,70 mm. En Alcalá del Río se registraron caudales medios mensuales de $15,81 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$, siendo de $17,18 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ el caudal medio registrado durante la semana del muestreo.

Toma 5. Abril de 2003

En este mes la toma de muestra se realizó durante los días 8, 9 y 10 del mes de abril de 2003. Durante este mes las precipitaciones medias registradas fueron de 13 mm, con una media durante la semana de muestreo de 9 mm. Los caudales medios mensuales medidos en Alcalá del Río fueron de $64,11 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$, siendo el correspondiente a la semana de muestreo de $27,22 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$.

Toma 6. Noviembre de 2003

Debido a las fuertes lluvias registradas durante el mes de octubre de 2003 fue necesario posponer la toma de muestras hasta el mes de noviembre, que fue realizada durante los días 11, 12 y 13. Las precipitaciones medias mensuales correspondientes a noviembre de 2003 fueron de 21,00 mm, con un valor medio para la semana de toma de muestras de 11,50. En cuanto a los caudales registrados en Alcalá del Río, se obtuvieron medias mensuales y semanales de $40,70 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$.

RESULTADOS

A continuación se exponen los resultados obtenidos en el análisis de las aguas del río Guadalquivir durante las seis tomas de muestra descritas con anterioridad. Para facilitar la exposición de resultados, en primer lugar se ha optado por presentar, de forma descriptiva, los valores de los diferentes parámetros a lo largo del río obtenidos para cada uno de los muestreos. Posteriormente se discutirán los mismos, haciendo uso de diferentes herramientas estadísticas, y estableciendo relaciones entre los distintos parámetros, así como entre éstos y las diferentes zonas del río según la actividad humana desarrollada.

Variables físico-químicas

La determinación de diferentes variables físico-químicos permite obtener una primera aproximación a la calidad de las aguas. En este trabajo se han determinado las siguientes variables: pH, T^a, conductividad, salinidad, oxígeno disuelto y sólidos en suspensión. A continuación se exponen gráficamente los resultados obtenidos para cada uno de ellos recogiendo la totalidad de los valores obtenidos para cada estación de muestreo y cada toma de muestras en el anexo 2.

1. Temperatura

La temperatura de las aguas de un río se encuentra generalmente controlada por la temperatura atmosférica, así como por la entrada de aguas marinas en la zona estuárica. De todos modos, existen ocasiones en las que una variación en la temperatura del agua puede relacionarse con la entrada de otras aguas de diferentes características, por ejemplo la procedente de un efluente industrial.

Las temperaturas obtenidas en los diferentes muestreos y para cada una de las estaciones seleccionadas se presentan en la figura III.1 considerando como distancia cero a la primera estación de muestreo, la estación de Alcalá del Río. En dicha figura se observa que la temperatura de las aguas del río Guadalquivir presentó pocas variaciones entre los distintos muestreos efectuados, pudiéndose atribuir las diferencias encontradas a lo largo del río a las diferentes horas del día a las que las muestras fueron tomadas más que a la existencia de una entrada de agua de características térmicas diferentes

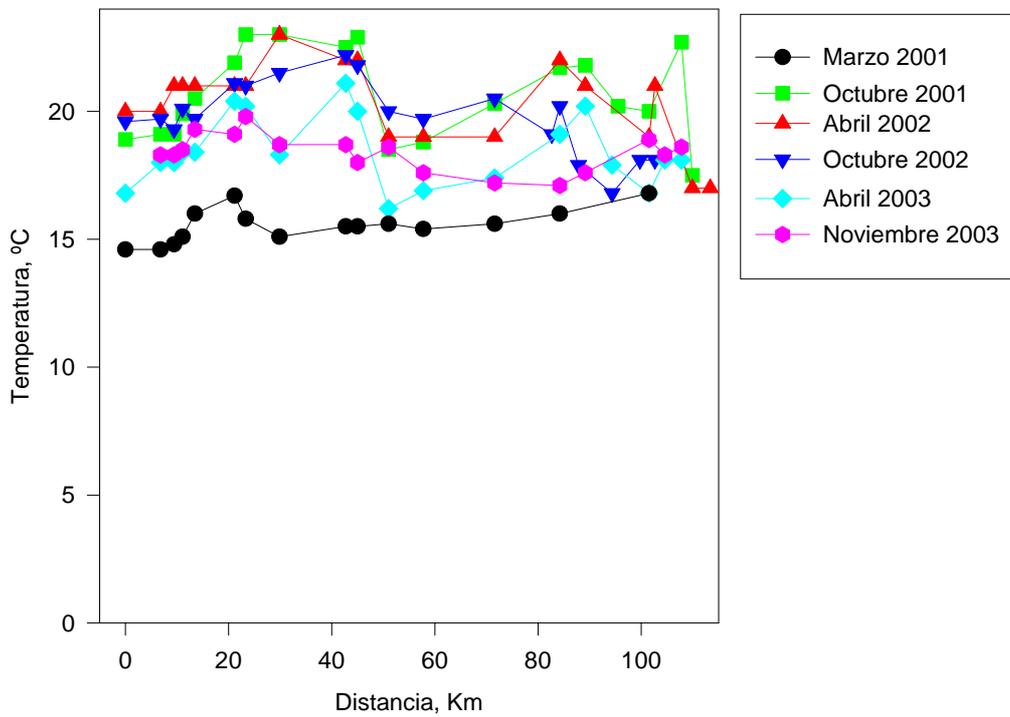


Figura III.1. Temperatura en el río Guadalquivir frente a la distancia.

2. Conductividad

El estudio de la conductividad en las aguas del río Guadalquivir es de gran importancia, ya que va a indicar el punto en el que se produce el intercambio de las aguas fluviales con las marinas, lo cual va a implicar la existencia de una multitud de reacciones químicas que influirán notablemente en el comportamiento de todas las variables objeto de estudio. En la figura III.2 se presentan los valores de conductividad a lo largo del río Guadalquivir para cada toma de muestras.

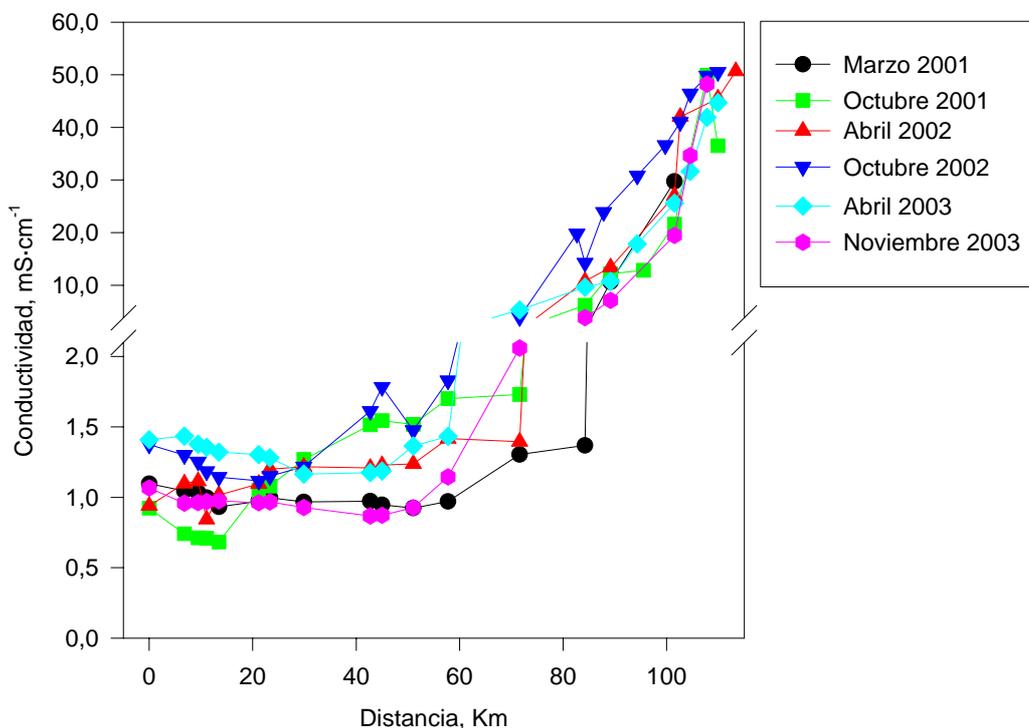


Figura III.2. Conductividad en las aguas del río Guadalquivir.

Toma 1. Marzo de 2001

Los valores de conductividad durante esta toma de muestras se mantuvieron en el rango de 0,9-29,7 $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$. Como se puede ver en la figura III.2, la conductividad en las aguas del río Guadalquivir permanece prácticamente constante a lo largo de los primeros 60 Km, desde Alcalá del Río hasta la desembocadura del Brazo del Este, para producirse después un aumento paulatino a medida que se produce la mezcla entre las aguas del río y las marinas.

Toma 2. Octubre de 2001

En este caso los valores de conductividad se encuentran en el rango de 0,6-36 $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$. En la figura III.2 se aprecia cómo se produce un aumento paulatino en la conductividad a partir del kilómetro 7, mucho antes que en la toma correspondiente a la primavera. Este hecho puede relacionarse con el menor caudal del río durante el mes de Octubre, con lo que la influencia de las aguas marinas alcanza un mayor recorrido.

Toma 3. Abril de 2002

Para este muestreo la conductividad de las aguas del río Guadalquivir se mantuvo en el rango de 0,8-50,7 $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$. Cabe destacar algunas diferencias respecto a la toma de primavera del año anterior, principalmente en lo que se refiere a un leve aumento de conductividad en la zona intermedia del río respecto a los valores de la primera toma, aunque se mantienen relativamente constantes hasta el kilómetro 60, donde se vuelve a observar la mezcla de los dos tipos de agua.

Toma 4. Octubre de 2002

Las muestras recogidas durante este mes se mantuvieron en el rango de 1,1-50,5 $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$. El perfil que presentan dichos valores es muy similar al encontrado durante la toma de octubre del año anterior, tal y como se aprecia en la figura III.2. Aunque hay que destacar que durante esta toma no se observó la disminución en los valores de conductividad detectados en octubre del año anterior para la zona más urbana del río, lo que puede indicar una mayor penetración del agua de mar gracias al menor caudal del río.

Toma 5. Abril de 2003

En esta toma de muestras los valores de conductividad se mantuvieron en el rango de 1,1-44,7 $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$. El comportamiento fue muy similar al correspondiente al mes de abril del año anterior, excepto por una ligera subida en los valores de conductividad en la zona urbana.

Toma 6. Noviembre de 2003

Los valores de conductividad durante esta toma de muestras se mantuvieron en el rango de 0,87-48,2 $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$. De nuevo se observa el mismo perfil que en las ocasiones anteriores, con valores casi constantes durante todo el tramo fluvial, comenzando a aumentar desde el kilómetro 60 hacia la desembocadura, debido a la mezcla con el agua de mar.

Variaciones estacionales y espaciales

Respecto al establecimiento de una relación entre la estación anual y los valores de conductividad que presentan las aguas del río Guadalquivir, se puede señalar que en la época de menor caudal se registraron en general los valores más altos en la zona intermedia del río, evidenciando una mayor entrada del agua de mar con la marea creciente durante esta época, tal y como cabía esperar.

Para establecer el comportamiento espacial general que muestra esta variable a lo largo del río se tuvieron en cuenta todos los resultados obtenidos en los diferentes muestreos para cada una de las estaciones de muestra y se representaron tendencias medias utilizando los denominados gráficos de cajas y bigotes, más conocidos por su nombre en inglés como gráficos boxplot o box-whiskers, como se observa en la figura III.3. De este modo, en lugar de visualizar los datos individuales se representan los cinco estadísticos básicos de la distribución, como son el cuartil inferior o percentil 25, la mediana, el cuartil superior o percentil 75 y los valores anómalos de la distribución (Visauta, 1997). Una explicación detallada de este tipo de gráficos y de los estadísticos que los componen se recoge en el anexo 3.

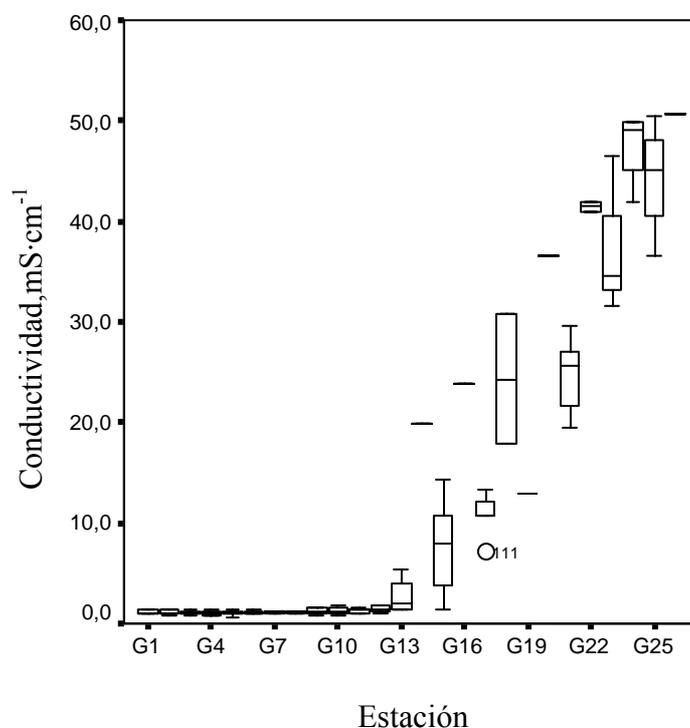


Figura III.3. Gráfica box-plot para conductividad.

Aunque la influencia mareal en el Guadalquivir alcanza aguas arriba de la ciudad de Sevilla, en la figura se observa que el punto de mezcla de las aguas fluviales y marinas se localiza entre las estaciones 13 y 17, coincidiendo con la desembocadura del Brazo del Este y la del Brazo de la Torre aproximadamente, donde se advierte un cambio importante en la conductividad y cuya posición exacta dependerá del caudal del río y del estado de la marea en la que se encuentre.

3. pH

El pH es un importante parámetro químico del cual dependen un gran número de procesos que tienen lugar en las aguas naturales. En la figura III.4 se presentan los valores de pH en las aguas del río Guadalquivir para cada una de las tomas de muestra realizadas.

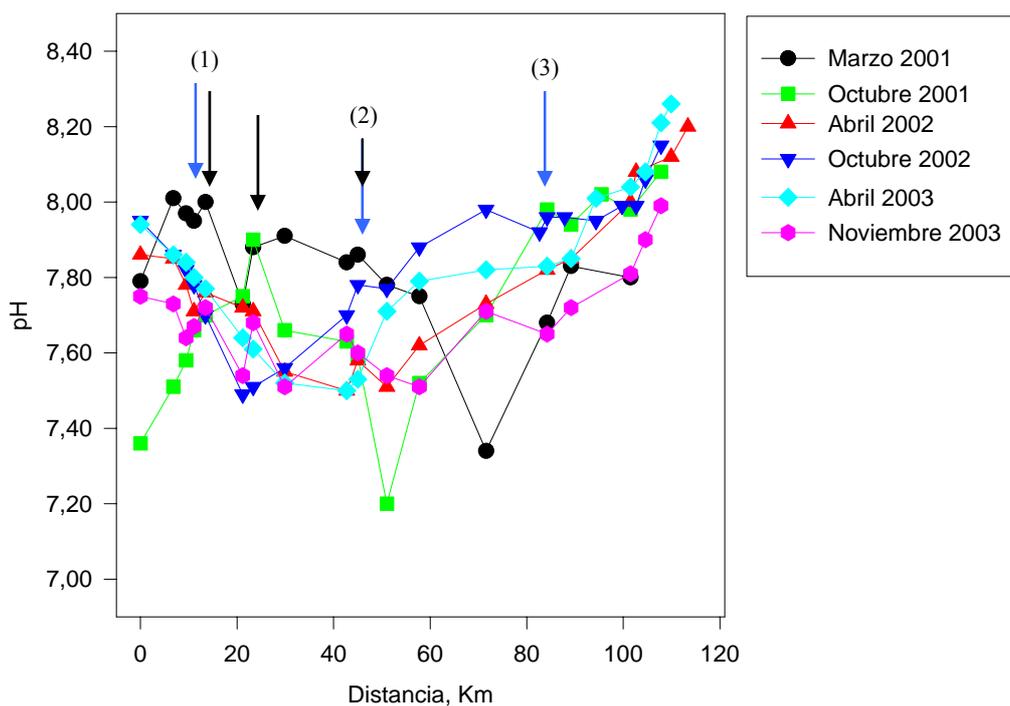


Figura III.4. pH en las aguas del río Guadalquivir. → Afluentes: (1) Rivera de Huelva, (2) Río Guadaira, (3) Brazo de la Torre; → EDAR

Toma 1. Marzo de 2001

Durante esta toma de muestra el pH a lo largo del río Guadalquivir se mantuvo en el rango de 7,3-8,0, con un valor medio de 7,82. De los datos representados en la figura III.4 cabe destacar que los valores de pH fueron bastante altos en la parte inicial de la zona de estudio disminuyendo ligeramente hasta la desembocadura del Brazo del Este (kilómetro 60), donde existe una notable caída. A partir de este punto los valores de pH aumentan paulatinamente a medida que se produce la mezcla con las aguas marinas, de pH más alto.

Toma 2. Octubre de 2001

En este caso los valores de pH se encontraron entre 7,2-8,1, con un valor medio de 7,71. Como se observa en la figura III.4 existen importantes diferencias en el comportamiento del pH con respecto a la toma anterior. Principalmente se puede citar los bajos valores que se encontraron en el primer tramo del río, correspondiendo a la zona urbana y registrándose un máximo en la zona de vertido de la EDAR Tablada, aunque este punto no presentaba un valor de pH superior al observado durante el muestreo anterior. A partir de este punto el pH disminuye ligeramente en toda la zona agrícola del río, alcanzando valores más bajos que durante el mes de marzo. En la parte estuárica del río vuelve a observarse un aumento del pH a medida que se produce la mezcla de los dos tipos de agua.

Toma 3. Abril de 2002

Durante esta toma de muestra los valores de pH se mantuvieron en el intervalo de 7,1-8,2, con un valor medio de 7,79. En la figura III.4 se observa claramente como el pH presenta un perfil en forma de U a lo largo del río Guadalquivir, ya que los menores valores se presentan en la zona central del río, coincidiendo con el final del área urbana y la zona de aumento de conductividad.

Toma 4. Octubre de 2002

En esta toma de muestra los valores de pH en las aguas del Guadalquivir estuvieron entre los valores de 7,5-8,1, con un valor medio de 7,84. De nuevo en la figura III.4 se observa un perfil en forma de U similar al de la toma anterior. Pero en

este caso el mínimo se encuentra ligeramente desplazado hacia la parte alta del río, seguramente debido al menor caudal que presenta en esta época, lo que permite una mayor entrada de agua de mar con pH superior.

Toma 5. Abril de 2003

El intervalo en el que se mantuvo el pH durante esta toma fue de 7,5-8,3, con una media de 7,83, y se puede observar otra vez el perfil en forma de U, tal y como se presenta en la figura III.4. Los valores a lo largo de todo el río son similares a los obtenidos durante la primavera anterior, excepto por un ligero aumento en la zona próxima al estuario.

Toma 6. Noviembre de 2003

Durante este muestreo el pH se encontró dentro del rango de 7,5-8,0, con un valor medio de 7,78, presentando de nuevo el perfil en forma de U, ya característico. A pesar de las fuertes lluvias producidas durante el mes anterior al muestreo, no se observa ningún comportamiento atípico a excepción de una disminución en los valores de pH registrados en la desembocadura si se comparan con los obtenidos en las anteriores tomas de muestras. Esta disminución de pH en el estuario se puede relacionar con la menor entrada de agua de mar al río debido al mayor caudal de agua no salina.

Variaciones estacionales y espaciales

Para establecer si existen variaciones espaciales y temporales de esta variable se realizó el análisis de la varianza de dos factores, de forma que se tiene en cuenta las interacciones que pueden existir entre ambos. Para poder realizar este análisis fue necesario agrupar previamente las estaciones de muestreo en cuatro zonas de acuerdo a sus características conocidas, tal y como se explica en el anexo 4. La primera de estas zonas abarca las estaciones G1-G5 (urbanas/agrícolas), la segunda las estaciones G6-G7 (urbanas), la tercera las estaciones G8-G12 (agrícolas) y la última zona agrupó las estaciones G13-G26 (estuáricas). De este análisis, cuyo procedimiento y resultados se presentan en los anexos 4 y 5 respectivamente, se concluye que los valores de pH en las aguas del río Guadalquivir presentaron diferencias significativas para ambos factores, aunque en mayor medida para el factor espacial. De hecho, al aplicar el test de Tuckey

para comparar cada par de tomas de muestra sólo aprecia la existencia de diferencias significativas entre unos pocos pares, sin que sigan un patrón estacional. Esto indica que aunque el caudal del río puede producir pequeños desplazamientos de los valores de pH en la zona central del río, tal y como se aprecia en la figura III.4, éstos son pequeños por lo que se puede concluir que no existen relaciones estacionales significativas para el pH de las aguas del Guadalquivir.

La independencia temporal que presentan los valores de pH en las aguas del río Guadalquivir implica que, en general, el perfil de variación a lo largo del río sea similar para diferentes tomas de muestra, haciendo posible la obtención de valores medios que sean representativos de una estación de muestreo determinada. Con ellos se permite realizar el estudio de las variaciones espaciales a lo largo del río, para así poder caracterizar las propiedades de las diferentes zonas del río en función de los usos del suelo y los diversos efectos causados por éstos en las aguas fluviales. En la figura III.5 se presentan los valores medios de pH como gráficos de cajas y bigotes en cada estación de muestreo.

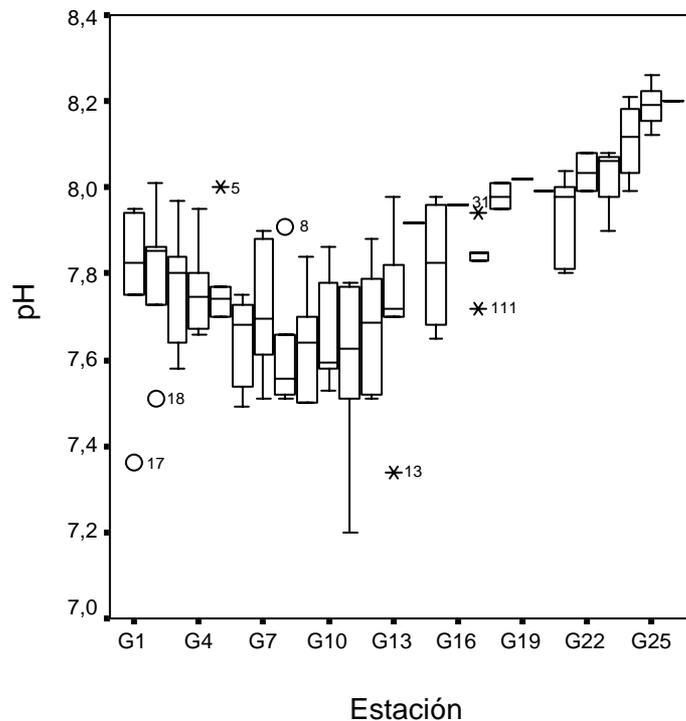


Figura III.5. Gráfico box-plot para pH.

En general, como se aprecia en la figura, esta variable presenta un perfil en forma de U a lo largo del río Guadalquivir con las concentraciones más bajas entre las estaciones 7 y 10, coincidiendo con el final del área urbana del río. Achterberg y col. (1999) encuentran valores similares a los presentados en este trabajo para esta zona (7,37-7,69), así como para el área de Sanlúcar de Barrameda (7,85-7,89) durante el año 1998.

Ya en la desembocadura se observa un aumento en el pH al aumentar la salinidad de las aguas, gracias a la entrada del agua de mar con un pH más alto. Este tipo de comportamiento del pH frente a la salinidad ya había sido observado con anterioridad en la desembocadura del río Guadalquivir (Ponce y col., 2003).

4. Oxígeno disuelto

Esta es otra de las variables físico-químicas que regula en gran medida las reacciones que se producen entre los distintos elementos presentes en las aguas naturales. La medición de esta variable se introdujo a partir del cuarto muestreo presentándose los resultados en la figura III.6.

Toma 4. Octubre de 2002

Los valores de oxígeno disuelto registrados en esta toma de muestra se muestran en la figura III.6 y estuvieron en el rango de 1,5-8,4 mg·L⁻¹, con un valor medio de 5,48 mg·L⁻¹.

La medición de los niveles de oxígeno disuelto en la zona del río Guadalquivir en estudio ha resultado un magnífico indicador de la situación de las diferentes zonas del río. Así, podemos observar cómo en la primera estación de muestreo las aguas presentan niveles de oxígeno disuelto elevados y cercanos a sus valores de saturación. La presencia de núcleos urbanos provoca una disminución paulatina del oxígeno disuelto, que se hace máxima en la zona de influencia de la capital sevillana relacionándose con el consumo de oxígeno que ocasiona la degradación de la materia orgánica que aportan las aguas residuales. Este efecto ha sido observado en otros ríos afectados por vertidos urbanos, como es el caso del río Scheldt (Francia), donde se produce una columna anóxica que se prolonga a lo largo de 30 Km en la estación más seca (Zwolsman y col., 1997). En el Guadalquivir, dentro de esta zona de bajada existe

un pequeño repunte en la zona de la estación de muestreo G-4, coincidiendo con la entrada de agua más oxigenada del afluente Rivera de Huelva. Como puede observarse, la zona de mínima oxigenación es variable para este muestreo respecto a los posteriores. Este hecho, relacionado con la entrada de agua marina desde la desembocadura, está en concordancia con los desplazamientos observados para el pH y la conductividad, y que ya han sido comentados.

Una vez dejada atrás la zona de influencia de los efluentes de aguas residuales urbanas, la oxigenación del agua aumenta, gracias fundamentalmente a la entrada de aguas externas. Esta subida está parcialmente retenida por la llegada al río de nutrientes procedentes de explotaciones agrícolas, y alcanza una cierta estabilidad entre los puntos kilométricos 80 y 100 del río, coincidiendo con una ligera subida de los niveles de nutrientes (ver por ejemplo figura III.10 y figura III.12) y sólidos en suspensión (ver figura III.8). Finalmente, los puntos externos, ya marinos, presentan mayores niveles de oxígeno disuelto debido a la dilución experimentada.

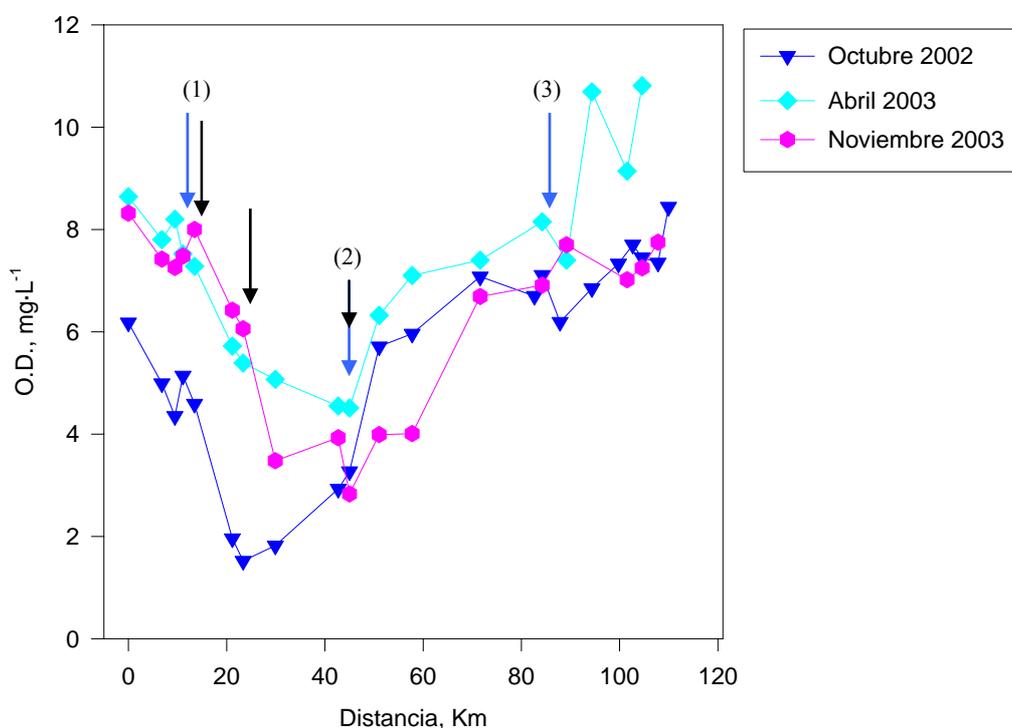


Figura III.6. Oxígeno disuelto en las aguas del río Guadalquivir. → Afluentes: (1) Rivera de Huelva, (2) Río Guadaira, (3) Brazo de la Torre; → EDAR

Toma 5. Abril de 2003

En esta toma de muestras la concentración de oxígeno disuelto estuvo en el rango de 4,5-10,8 mg·L⁻¹, con un valor medio de 7,3 mg·L⁻¹. Se observa un perfil idéntico al de la toma de muestra anterior, aunque con mayores concentraciones en general a lo largo de todo el río. Este aumento en el oxígeno disuelto respecto a los valores obtenidos anteriormente se debe a que durante este muestreo el caudal era mucho mayor, favoreciendo la oxigenación de las aguas.

En este caso también queda demostrada la influencia de las aguas residuales urbanas en las aguas del río, produciendo una fuerte disminución de los contenidos de oxígeno disuelto en toda el área urbana. Después de alcanzar su valor mínimo en la desembocadura del río Guadaira los niveles de oxígeno disuelto aumentan paulatinamente hacia la desembocadura, donde este aumento se hace más pronunciado gracias a la dilución originada por la entrada de aguas marinas más oxigenadas.

Toma 6. Noviembre de 2003

Durante esta toma de muestras el oxígeno disuelto en las aguas del río Guadalquivir se mantuvo en el rango de 2,8-8,3 mg·L⁻¹, con un valor medio de 7,3 mg·L⁻¹. El perfil que presenta a lo largo del río es similar al de muestreos anteriores, con una disminución del oxígeno disuelto a lo largo del área urbana, aunque en esta ocasión esa disminución se mantiene en los primeros puntos de la zona agrícola. Esto se debe a que durante esta toma de muestras el caudal del río era bastante alto, con lo que se produjo un desplazamiento del perfil hacia la desembocadura. En este caso el aumento en el oxígeno disuelto se produce ya en el kilómetro 80, y mantiene un ascenso suave en la zona estuárica, a medida que aumenta la salinidad de las aguas.

Variaciones estacionales y espaciales

Para conocer si existen dependencias estacionales de los niveles de oxígeno disuelto en las aguas del río Guadalquivir se aplicó a los resultados obtenidos el análisis de la varianza de dos factores, de igual modo que para la variable pH. En este caso sí se encontraron diferencias significativas para ambos factores, y para establecer dónde se encontraban dichas diferencias se aplicó el test de Tuckey, cuyo procedimiento y resultados se recogen en los anexos 4 y 5. En este caso todos los muestreos fueron

significativamente distintos entre sí, pero el hecho de contar sólo con datos de tres tomas de muestras no permite establecer la existencia de dependencias estacionales. Desde el punto de vista espacial, prácticamente todas las zonas mostraron diferencias significativas entre ellas.

Para establecer el comportamiento espacial general del oxígeno disuelto en el río Guadalquivir se representaron los valores obtenidos para cada estación de muestreo mediante las cajas de box-whisker, como se observa en la figura III.7.

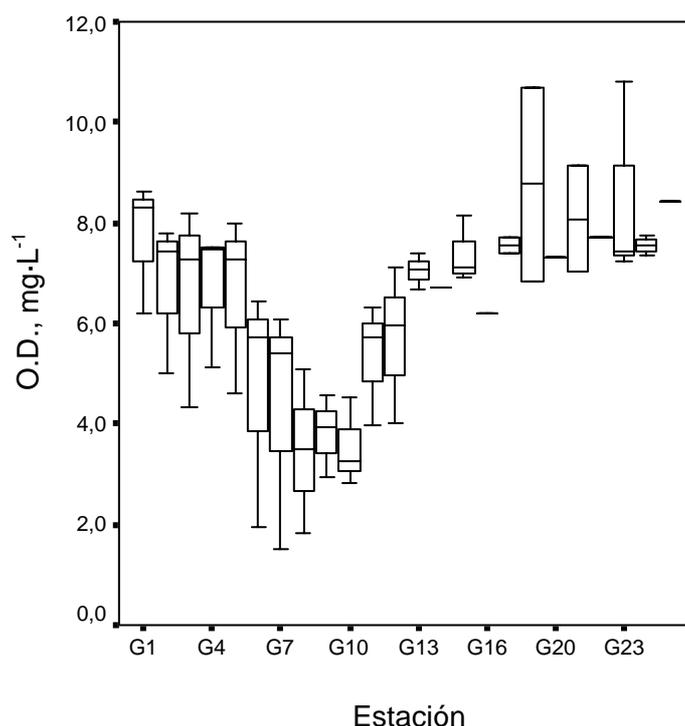


Figura III.7. Gráficos de box-plot para el oxígeno disuelto.

Como se observa en la figura, el perfil es similar al encontrado para el pH, con los mínimos registrados en el área urbana, donde existen vertidos de estaciones de tratamiento de aguas residuales. Este tipo de vertidos aportan una alta cantidad de materia orgánica, y en su degradación se consume oxígeno como se ha comentado anteriormente. Ya en la desembocadura los niveles aumentan progresivamente gracias a la mezcla con las aguas marinas con mayor contenido de oxígeno disuelto.

5. Sólidos en suspensión

La concentración de sólidos en suspensión en las aguas naturales, junto con los otros parámetros físico-químicos expuestos anteriormente, resulta de gran interés para el establecimiento de las relaciones existentes entre los elementos de la fase disuelta y particulada. Además puede poner de manifiesto la aparición de diferentes fenómenos externos al río, y que pueden llegar a causar notables efectos sobre el mismo. Los valores obtenidos para las aguas del río Guadalquivir han sido representados en la figura III.8 para cada una de las tomas de muestra realizadas.

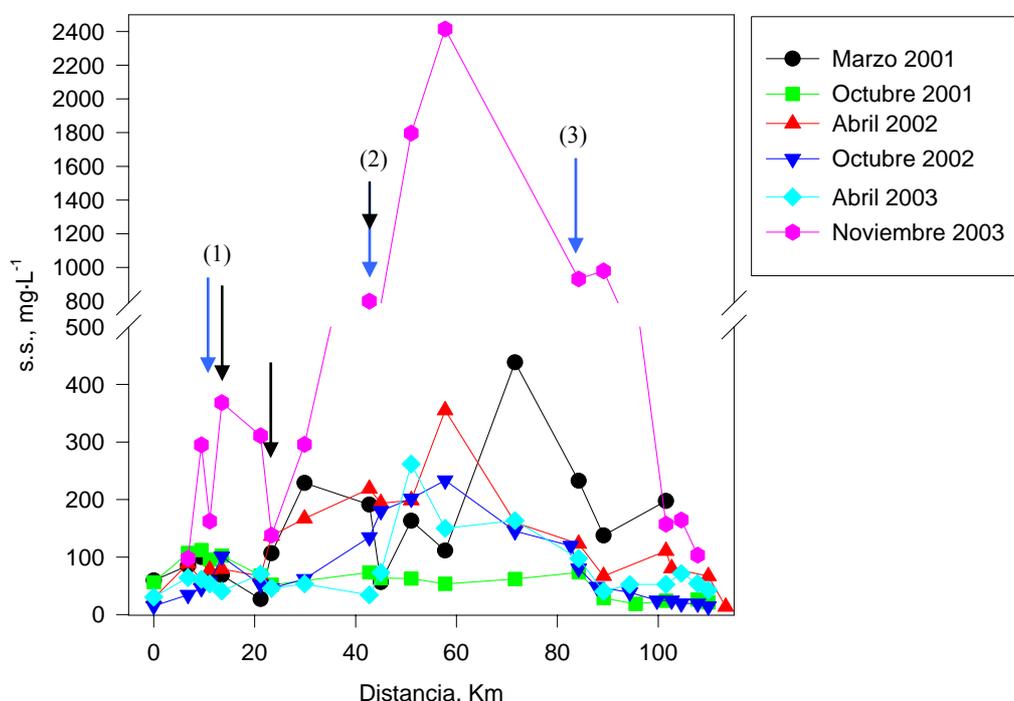


Figura III.8. Sólidos en suspensión en las aguas del río Guadalquivir. → Afluentes: (1) Rivera de Huelva, (2) Río Guadaira, (3) Brazo de la Torre; → EDAR

Toma 1. Marzo de 2001

Los sólidos en suspensión presentes en las aguas del río Guadalquivir durante esta toma de muestras se mantuvieron entre 26,9-438,3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de 137,5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Los valores más bajos se localizaron en el primer tramo del río, pudiendo observarse un máximo relativo en esta zona para la estación de muestreo G-3, después

de la cual los valores de sólidos en suspensión comienzan a disminuir hasta la estación correspondiente a la población sevillana de San Juan de Aznalfarache. A partir de este punto se vuelve a producir un aumento que se mantiene hasta la desembocadura del río Guadaira, donde se miden los mínimos correspondientes a la zona agrícola. En las siguientes estaciones de muestreo se detecta de nuevo un aumento en los contenidos de sólidos en suspensión, tal y como cabría esperar al ser esta un área predominantemente agrícola en la que las escorrentías supondrían un importante aporte de sólidos al río.

El máximo contenido en sólidos en suspensión en la zona de estudio se alcanza en el kilómetro 70, donde se encuentra el llamado punto de máxima turbidez que puede ser indicativo del lugar de encuentro entre las aguas fluviales y las marinas (Dassenakis y col., 1997; Zwolsman y col., 1997), y que para este muestreo se encontraba más próximo a la desembocadura que en el resto. A partir de este punto la cantidad de sólidos en suspensión disminuye a lo largo del estuario hacia el mar, debido a la dilución ocasionada por las aguas marinas con mucho menor contenido en sólidos en suspensión. La aparente subida en el último punto de muestreo puede ser debida a la influencia de la población de Sanlúcar de Barrameda, junto con la existencia de una barra arenosa en la desembocadura en las proximidades de la cual podría originarse una resuspensión del material depositado. Este efecto ya fue observado por Balls (1994) en los estuarios de los ríos Ythan y Don en Inglaterra.

Toma 2. Octubre de 2001

En este caso, los sólidos disueltos se mantuvieron dentro del rango de 21,2-113,0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, con una concentración media de 61,05 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. En el primer tramo del río, el perfil fue idéntico al de la toma anterior, con un máximo relativo en la estación G-3. La principal diferencia con respecto al muestreo anterior se encuentra en los bajos contenidos de sólidos en suspensión en la zona agrícola, donde además permanecen prácticamente constantes, y que puede deberse a un menor caudal del río y a la disminución de las aguas de escorrentía procedentes de los cultivos, ya que las precipitaciones durante el mes de muestreo fueron mucho menores que las registradas en la toma anterior.

En la zona estuárica se observa en general una disminución en el contenido de sólidos en suspensión a medida que se produce la mezcla con las aguas marinas, aunque con algunas excepciones puntuales. Así, y a pesar de que en este caso no se aprecia tan

claramente un máximo destacable donde localizar el punto de máxima turbidez, en el kilómetro 83 se observa un pequeño aumento posiblemente debido a la mezcla de los dos tipos de agua favorecido además por la entrada de las aguas del Brazo de la Torre. A partir de este punto comienza a disminuir el contenido de sólidos en suspensión hasta encontrar otra ligera subida correspondiendo a la estación G21, donde se encuentra la población de Sanlúcar de Barrameda.

Toma 3. Abril de 2002

Para esta toma de muestras los contenidos en sólidos en suspensión en las aguas del río Guadalquivir se mantuvieron en el rango de 13,6-218,8 mg·L⁻¹, con un valor medio de 120,59 mg·L⁻¹. Cabe destacar que, como se observa en la figura III.8, la primera parte del río presenta un perfil idéntico a los obtenidos durante las tomas anteriores apareciendo de nuevo un máximo relativo, aunque ligeramente desplazado respecto a los anteriores muestreos.

Una vez fuera del área urbana los valores de sólidos en suspensión aumentan a lo largo de la zona agrícola, aunque aparece un ligero descenso en la desembocadura del río Guadaira, tal y como se había observado en la primavera anterior. En este caso la máxima turbidez se alcanza en el kilómetro 60, algo antes que en las tomas anteriores. A partir de aquí se produce una disminución en la cantidad de sólidos en suspensión a medida que se avanza hacia el mar, tendencia que se rompe en el kilómetro 100, donde aparece un máximo en la zona como ocurría en los muestreos anteriores.

Toma 4. Octubre de 2002

Tal y como se puede ver en la figura III.8, en esta toma de muestras los sólidos en suspensión estuvieron en el rango de 14,3-233,3 mg·L⁻¹, con un valor medio de 77,1 mg·L⁻¹.

Para esta toma de muestra el perfil que presentan los contenidos de sólidos en suspensión en las aguas del río Guadalquivir en el primer tramo de la zona de estudio fue idéntico al obtenido en tomas anteriores, aunque con valores algo inferiores. Esto parece indicar que en el área urbana no existen variaciones importantes en el comportamiento de esta variable que dependan de la estación anual.

A partir del kilómetro 20, coincidiendo con la parte final del área urbana la concentración de sólidos en suspensión comienza a aumentar, aunque lentamente al principio, para alcanzar su máximo en el kilómetro 60 donde se encuentra el punto de máxima turbidez, que marca la mezcla de las aguas fluviales y marinas. En la figura III.2 puede observarse el aumento de conductividad que tiene lugar en este punto indicando la existencia de dicha mezcla.

Ya en la zona estuárica existe una disminución continua en el contenido de sólidos en suspensión a medida que aumenta la salinidad.

Toma 5. Abril de 2003

Durante esta toma de muestras el contenido en sólidos en suspensión se mantuvo en el rango de 30,3-261,7 mg·L⁻¹, con un valor medio de 75,6 mg·L⁻¹. También en esta toma aparece el ya clásico perfil correspondiente al área urbana, con un máximo relativo en las estaciones G-2 y G-3. Pero en este caso el aumento que se había observado anteriormente para la zona agrícola comienza a partir del kilómetro 40 y alcanza su máximo en la estación G-11, donde desemboca el Brazo de los Jerónimos y caracterizada por los cultivos de arroz.

Dejando ya la zona agrícola se observa una disminución en la concentración de sólidos en suspensión a medida que aumenta la salinidad hasta el kilómetro 94, donde comienza a aumentar coincidiendo con Sanlúcar de Barrameda, tal y como se ha visto en las otras tomas de muestra.

Toma 6. Noviembre de 2003

Durante esta toma de muestras la concentración de sólidos en suspensión se encontró siempre en el intervalo de 97,6-2415,0 mg·L⁻¹, con un valor medio de 612,3 mg·L⁻¹. Es importante destacar que el perfil de concentración obtenido durante esta toma de muestras es similar al de las tomas anteriores aunque las concentraciones registradas fueron mucho mayores. Este hecho puede atribuirse sin lugar a dudas a las fuertes lluvias registradas durante este año en el mes de octubre, lo cual hace de este muestreo un caso particular.

Como se puede observar en la figura III.8, a pesar de que las concentraciones de sólidos en suspensión son anormalmente altas a lo largo de todo el río, en el área urbana

vuelva a aparecer un máximo relativo en la estación G-5 disminuyendo posteriormente hasta el kilómetro 20. A partir de aquí comienza un aumento coincidiendo con una mayor influencia de las actividades agrícolas, que en este caso se hace más notable que en otros muestreos debido al aumento de las escorrentías ocasionado por las continuas lluvias registradas en esta época. Se observa de nuevo el punto de máxima turbidez en el kilómetro 60, como ocurría en otras ocasiones, y a partir de aquí comienza a disminuir el contenido en sólidos en suspensión al producirse un mayor aporte de agua de mar. Este descenso se frena ligeramente en el kilómetro 105, coincidiendo nuevamente con Sanlúcar de Barrameda.

Variaciones estacionales y espaciales

Para establecer las relaciones espacio-temporales de las concentraciones de sólidos en suspensión en el río Guadalquivir fue necesario realizar el test de Kruskal-Wallis ante la imposibilidad de realizar el ANOVA debido a la falta de homogeneidad entre las varianzas de las series a comparar, como se describe en el anexo 4. En este caso el test encontró que existían diferencias significativas tanto espaciales como temporales, y aunque en este caso no es posible realizar comparaciones a posteriori entre los datos, si se observa la figura III.8 se puede comprobar que dichas diferencias se deben principalmente a los resultados obtenidos durante el último muestreo. Así pues estas diferencias no indican un comportamiento estacional claro de los sólidos en suspensión en las aguas del río Guadalquivir. Esta independencia estacional de las concentraciones de sólidos en suspensión ha sido observada en otros lugares, como en el delta del río Mekong (Vietnam) (Cenci y col., 2004).

Para realizar el estudio de las tendencias espaciales en el contenido de sólidos en suspensión en las aguas del río Guadalquivir en la figura III.9 se han representado para cada estación los gráficos de cajas y bigotes teniendo en cuenta todos los muestreos realizados, aunque se han eliminado los casos más extremos porque distorsionaban el perfil (casos 99-111 en el anexo 2).

En la figura se puede observar la existencia de tres máximos relativos en el contenido de los sólidos en suspensión a lo largo del río Guadalquivir. El primero de ellos se localiza al comienzo de la zona urbana, donde la agricultura se encuentra también presente de forma importante. La pequeña disminución observada en la

desembocadura del Rivera de Huelva puede relacionarse con un menor contenido en sólidos en suspensión de este afluente, que presentó valores inferiores a $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para el 2003 (Confederación Hidrográfica del Guadalquivir, 2004).

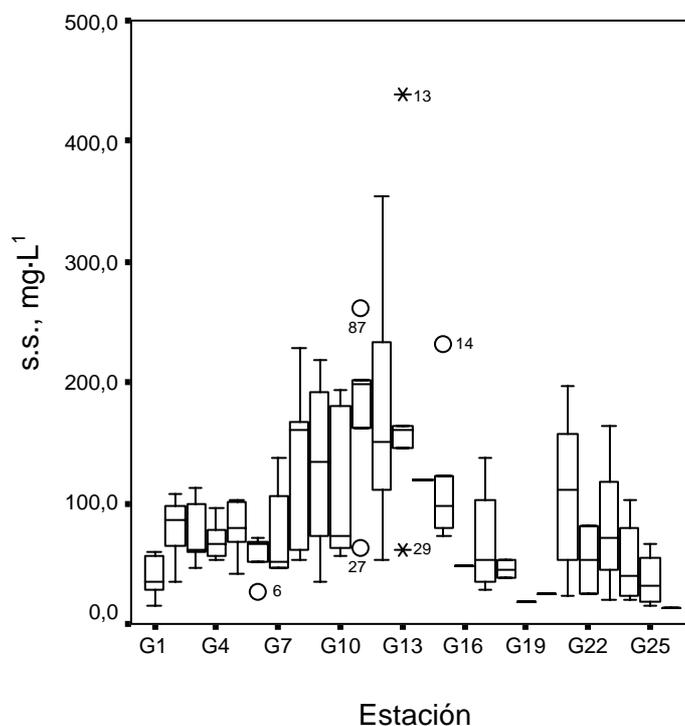


Figura III.9. Gráfico box-plot para sólidos en suspensión.

A partir de la estación G-6 se produce un nuevo aumento coincidiendo con el final de la zona urbana y la aparición de las mayores extensiones dedicadas a actividades agrícolas en la zona de estudio. De hecho en esta zona es donde se alcanza el máximo absoluto, debido a dos factores principalmente, por un lado al aporte de sólidos procedentes de las escorrentías de suelos agrícolas, y por otro lado al encuentro de los dos tipos de agua, fluvial y marina, que marcan el comienzo de la zona estuárica. La Confederación Hidrográfica del Guadalquivir recoge en su informe anual de 2003 que los sólidos en suspensión para la zona entre las desembocaduras del Brazo del Este y del Brazo de la Torre fueron siempre superiores a $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (Confederación Hidrográfica del Guadalquivir, 2004).

En el último tramo del río, coincidiendo con la zona estuárica propiamente dicha, se encuentra otro máximo relacionado con la población de Sanlúcar de

Barrameda y la resuspensión de material depositado en la barra, como se ha explicado anteriormente. A partir de este punto los sólidos en suspensión disminuyen al aumentar la salinidad debido a la dilución ocasionada por la entrada de agua de mar. Esta disminución se ha observado en otros estuarios, como en el del río Acheloos (Grecia) y en el río Scheldt (Francia) (Dassenakis y col, 1997; Zwolsman y col., 1997).

Nutrientes

Como se ha comentado con anterioridad, el contenido de nutrientes en las aguas es una importante fuente de información sobre el origen de los aportes que recibe un río. Así mismo son representativos, en gran medida, de la calidad de las aguas y de los procesos que se producen en dichas aguas a lo largo del curso fluvial.

En el presente trabajo se han determinado los contenidos en nitratos, nitritos, fosfato y amonio en las aguas del río Guadalquivir por considerar, como ya se ha señalado, que estas variables son especialmente útiles para establecer relaciones entre sus contenidos en las aguas del río y determinadas actividades antropogénicas (agrícolas, urbanas) existentes en las márgenes. A continuación se presentan los resultados obtenidos para cada uno de estos nutrientes a lo largo de todo el periodo de estudio.

1. Nitratos

Este parámetro resulta muy significativo, en la mayoría de los casos, de la existencia de aportes de origen agrícola, debido en gran medida al elevado uso de fertilizantes nitrogenados empleados en los cultivos, siendo igualmente indicativo de aguas residuales tratadas. En este trabajo los nitratos han sido determinados como nitrógeno nítrico, por lo que de aquí en adelante cuando se hable de nitratos se referirá siempre a nitrógeno nítrico.

En la figura III.10 se han representado las concentraciones de nitratos en las aguas del río Guadalquivir frente a la distancia desde el primer punto de muestreo en Alcalá del Río y para cada una de las tomas de muestras.

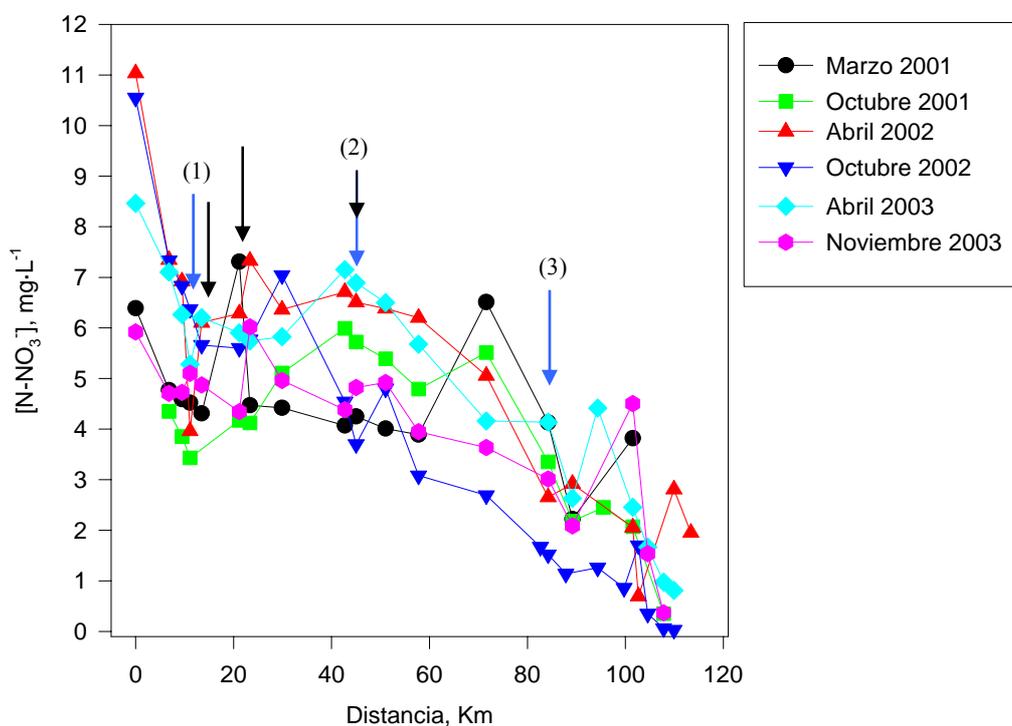


Figura III.10. Concentración de nitrógeno nítrico en las aguas del río Guadalquivir. → Afluentes: (1) Rivera de Huelva, (2) Río Guadaira, (3) Brazo de la Torre; → EDAR

Toma 1. Marzo de 2001

Como se ve en la figura III.10 las concentraciones de nitratos en el Guadalquivir se encontraban en el rango de 2,2-6,4 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de 4,6 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

A lo largo del primer tramo de río y correspondiendo con la zona más urbana cabe destacar la elevada concentración que se observa en la cabecera del río y que disminuye aguas abajo hasta encontrar otro aumento en la concentración en la zona correspondiente a la ciudad de Sevilla, donde se producen las descargas de efluentes de aguas residuales tratadas. Numerosos autores consideran como posible fuente de nitratos principalmente el uso de fertilizantes nitrogenados en agricultura, y ésta es probablemente la responsable del aumento en Alcalá del Río, ya que un 84% de la superficie de este municipio está ocupado por suelos agrícolas, siendo el cultivo principal el algodón.

En la zona intermedia del río los valores se mantienen constantes hasta el kilómetro 60, donde se produce un aumento correspondiendo con la existencia de grandes extensiones de arrozales y cultivos de regadío, lo cual vuelve a poner de manifiesto la fuerte dependencia de este parámetro con las actividades agrícolas.

Por último, en la zona de la desembocadura se observa una disminución paulatina de la concentración de nitratos al aumentar la salinidad de las aguas, con un nuevo aumento en el kilómetro 100, no pudiendo apreciarse una tendencia clara de la concentración de este parámetro con respecto a la salinidad.

Toma 2. Octubre de 2001

En esta toma de muestras, realizada en época de bajo caudal, la concentración de nitratos a lo largo del río mostró variaciones mayores, abarcando una rango de 0,3-6,0 mg·L⁻¹, con un valor medio de 3,9 mg·L⁻¹. Al igual que en la toma anterior se observó una concentración alta de nitratos en la cabecera del río, aunque algo menores con respecto a la toma de marzo. Esta disminución puede estar relacionada con las menores precipitaciones observadas durante el mes de octubre, que reduce las escorrentías agrícolas y por tanto reduce la entrada de contaminantes relacionados con esta fuente. También es importante indicar que el mínimo en la zona se localiza en la desembocadura del afluente Rivera de Huelva, cuyas aguas podrían estar ocasionando una dilución de los contenidos de nitratos en el río Guadalquivir. En este periodo la concentración de nitratos comienza a aumentar ya en la zona urbana bajo la influencia de vertidos urbanos y a lo largo de toda la zona intermedia, donde la actividad predominante vuelve a ser la agricultura. Es en esta zona agrícola donde se alcanzan los máximos, coincidiendo con dos puntos importantes. El primero de ellos corresponde con la desembocadura del río Guadaira, este río tiene un caudal muy bajo y en época de verano la práctica totalidad de sus aguas está formada por los efluentes de las aguas residuales tratadas procedentes de las EDARs El Copero y Ranilla, que en conjunto poseen un caudal de 300.000 m³·día⁻¹, con una capacidad de 1.150.000 hab. equivalentes. Neal y col. (2000b) señalan que aunque las concentraciones de nitratos en el río Kennet (Inglaterra) no muestran una variación estacional sus fuentes difieren en las distintas épocas de año, cobrando más importancia la agrícola durante la época de lluvias y la residual durante la época seca, lo que podría estar ocurriendo en nuestro

caso de modo que este máximo estaría relacionado con la existencia de vertidos de aguas residuales tratadas. Muller y col. (1994) también encuentran en el estuario del Clyde (Escocia) un aumento en las concentraciones de nitratos, correlacionado con los fosfatos, cuando predominan las fuentes de origen residual.

El segundo de los máximos encontrados en la zona intermedia del río se encuentra en la división entre las provincias de Cádiz y Sevilla, donde aún existen amplias extensiones de cultivos de arroz que podrían ser responsables de estos altos valores, ya que en numerosas ocasiones se ha demostrado la relación entre el contenido de nitratos de las aguas de un río con el uso de fertilizantes y pesticidas en agricultura (Dassenakis y col., 1997; Jonnalagadda y Mhere, 2001; Jain, 2002).

En este caso se tomaron un mayor número de muestras en la zona de la desembocadura que en la primera toma, lo que permite observar una tendencia a disminuir la concentración de nitratos al aumentar la salinidad. Esta tendencia se rompe alrededor del kilómetro 100, donde existe un aumento coincidiendo con una mayor concentración de sólidos en suspensión, y que puede deberse a la presencia del núcleo urbano de Sanlúcar de Barrameda, con aportes de tipo urbano y agrícola. Este hecho indica que el río Guadalquivir representa una entrada importante de nitratos al Golfo de Cádiz, ya que sus aguas presentan concentraciones mucho más elevadas que las que se encuentran en el agua del mar.

Toma 3. Abril de 2002

Las concentraciones de nitratos en esta toma se hallaron en el intervalo de 0,7-11,0 mg·L⁻¹, con una media de 5,2 mg·L⁻¹. Como se aprecia en la figura III.10, de nuevo aparece un valor máximo en la cabecera del río, esta vez muy superior a las tomas de muestra anteriores, lo que reafirma la influencia de las actividades agrícolas en este punto. A partir de aquí las concentraciones disminuyen hasta encontrar otro máximo en la zona de Sevilla, concretamente en las cercanías de una importante arrocera y de vertidos de aguas residuales tratadas. De nuevo en esta situación se pone de manifiesto las dos posibles fuentes de nitratos en el río Guadalquivir, la urbana derivada de la entrada de efluentes de aguas residuales tratadas y la originada por la agricultura.

En la zona intermedia encontramos pocas variaciones en la concentración, manteniéndose alta, comenzando a disminuir al aproximarnos a la desembocadura.

En la zona estuárica la tendencia general es a disminuir el contenido en nitratos al aumentar la salinidad, observando un pequeño remonte en los últimos puntos de muestreo.

Toma 4. Octubre de 2002

El perfil que encontramos es muy similar a las dos tomas anteriores, variando las concentraciones en un rango de 0,1-10,5 mg·L⁻¹, con un valor medio de 3,7 mg·L⁻¹. De nuevo aparece el máximo en la cabecera del río y con valores similares a los hallados durante abril del mismo año, disminuyendo hasta volver a tener otro máximo en las cercanías de la EDAR Tablada. Después los contenidos en nitratos disminuyen hasta la desembocadura del río Guadaira, donde se registra un nuevo aumento, al igual que ocurría en el muestreo de octubre del año anterior. Este hecho viene a corroborar la teoría expuesta anteriormente de que durante la época de bajo caudal las aguas residuales tratadas son una fuente importante de nitratos a las aguas del río Guadalquivir.

Para reforzar esta hipótesis, a partir de este punto vemos cómo comienzan a disminuir las concentraciones a lo largo del río y hasta la desembocadura, sin apreciarse el efecto que las actividades agrícolas de la zona intermedia pueden tener en sus concentraciones. Este hecho puede ser atribuido a las escasas precipitaciones que tuvieron lugar en esta época y que, como ya se ha visto, influyó en otros parámetros como el oxígeno disuelto o los sólidos en suspensión. En este caso al disminuir las escorrentías agrícolas el aporte de nitratos debido a esta fuente sería menor.

En la desembocadura el comportamiento es similar al de los otros muestreos, con una clara tendencia a disminuir la concentración de nitratos en las aguas al aumentar la salinidad, gracias a la dilución producida por la entrada de agua de mar de menor contenido en nitratos. Cabe destacar la aparición de un punto fuera de esta tendencia general como se ha visto en las otras tomas de muestra. El hecho de que en esta zona se haya detectado también una ligera reducción en el oxígeno disuelto pondría de manifiesto la posible influencia de las actividades antropogénicas en esta zona del río.

Toma 5. Abril de 2003

Durante esta toma de muestras las concentraciones de nitratos en el río Guadalquivir se mantuvieron entre los valores 0,8-8,5 mg·L⁻¹, con un valor medio de 4,9 mg·L⁻¹. De nuevo se repite el comportamiento observado en las otras tomas de muestras. El máximo se localizó en el primer punto muestreado, y a partir de aquí se observa un descenso en las concentraciones de nitratos alcanzando el mínimo en la desembocadura del Rivera de Huelva como ya ocurría en la toma de octubre de 2001. A partir de este punto las concentraciones de nitratos aumentan ligeramente manteniéndose constantes en la zona de influencia de la ciudad de Sevilla.

Ya en la zona intermedia del río aparece un máximo relacionado una vez más con la desembocadura del río Guadaira, a partir de donde las concentraciones disminuyen progresivamente hasta la estación G-15, donde se frena dicho descenso coincidiendo con la desembocadura del Brazo de la Torre.

En la zona estuárica se produce un descenso en el contenido en nitratos al aumentar la salinidad, aunque se aprecia nuevamente un punto de concentraciones más altas que se aparta de esta tendencia.

Toma 6. Noviembre de 2003

La concentración de nitratos en esta toma de muestras se encontró en el intervalo 0,4-6,0 mg·L⁻¹, con un valor medio de 4,1 mg·L⁻¹.

De nuevo se observan concentraciones altas en la primera estación de muestreo, en Alcalá del Río, aunque no llegan al nivel de otras tomas de muestras. A lo largo del resto del área urbana y agrícola las concentraciones de nitratos presentaron valores similares para todas las estaciones de muestreo con una ligera tendencia a descender aguas abajo de Alcalá del Río. Fuera de esta tendencia se encuentra un máximo registrado en la estación G-7, coincidiendo con el vertido de aguas residuales urbanas y otro en la desembocadura del río Guadaira que ya ha sido relacionado anteriormente con este tipo de vertidos.

En la desembocadura se observa de nuevo la tendencia a disminuir el contenido de nitratos al aumentar la salinidad, aunque con un máximo que se aparta de la tendencia general en el kilómetro 100 al igual que para otras tomas de muestra, coincidiendo con una disminución del oxígeno disuelto.

Variaciones estacionales y espaciales

En este caso, al igual que ocurrió con los sólidos en suspensión, no fue posible aplicar el análisis de la varianza debido a la falta de homogeneidad en las varianzas de las series a comparar. Por esta razón se optó por la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, que se detalla en el anexo 4. Los resultados de dicho test, que se recogen en el anexo 5, concluyeron que las seis tomas de muestra realizadas son significativamente iguales para las concentraciones de nitratos para un nivel de significación del 0,05, aunque sí existieron diferencias espaciales. Así que las concentraciones de nitratos presentes en las aguas del río Guadalquivir no presentan un comportamiento estacional.

En algunos trabajos se ha descrito la existencia de estacionalidad en las concentraciones de nitratos en algunos ríos con aumentos durante los meses de mayor caudal debido a escorrentías agrícolas (Markich y Brown, 1998; Robson y Neal, 1997b; Michel y col., 2000). Asimismo, Worrall y Burt (1998) destacan que la carga de nitrógeno debida a fuentes residuales generalmente permanece relativamente constante a lo largo del año, por lo que en verano las concentraciones que aportan aumentan debido a una disminución del caudal y por tanto de la dilución. Pero por otro lado el efecto agrícola es el contrario, por lo que en ríos que tengan ambas fuentes la combinación de sus efectos puede traducirse en una ausencia de estacionalidad en las concentraciones. Además de los efectos que producen las diferentes fuentes de nitratos en los ríos, Balls (1994) señala que existen claras diferencias estacionales en las concentraciones de nitratos relacionadas con un descenso en la actividad biológica durante el verano, pero esta tendencia resulta menos obvia en estuarios con elevadas concentraciones de nutrientes, ya que los procesos biológicos no son capaces de utilizar suficientemente este nitrógeno para producir un cambio en su concentración. En el caso del Guadalquivir, en el que tenemos importantes entradas de origen urbano y agrícola, así como elevadas concentraciones de nitratos a lo largo de todo el río, es obvia la dificultad de que se establezcan relaciones estacionales sin tener que realizar un detallado estudio cuantitativo de la actividad biológica y de las concentraciones aportadas por cada una de las fuentes.

Para establecer claramente las diferencias espaciales y al igual que se ha hecho para las demás variables estudiadas, se ha procedido a representar en un gráfico de cajas

y bigotes los valores obtenidos para cada una de las tomas de muestra a lo largo de todo el periodo de estudio. Este gráfico se presenta en la figura III.11.

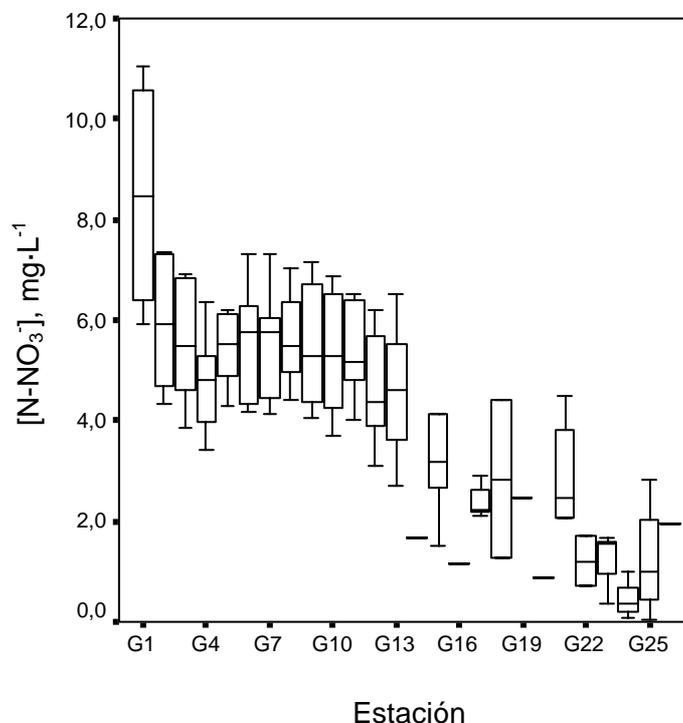


Figura III.11. Gráfico box-plot para nitratos.

Como se observa en la figura, el río Guadalquivir presenta un alto contenido en nitratos en toda la zona de estudio. De hecho, las concentraciones de este parámetro son las únicas que incumplen el valor guía de $1400 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, establecido por la Junta de Andalucía en la Orden del 14 de febrero de 1997, por la que se clasifican las aguas litorales andaluzas y se establecen los objetivos de calidad de las aguas afectadas directamente por los vertidos (BOJA, 1997). De todas formas hay que señalar que en dicha orden se indica que los objetivos para el río Guadalquivir se definirán en una orden posterior que aún no ha sido publicada.

Las mayores concentraciones de nitratos determinadas en el tramo objeto de estudio aparecen en la primera estación de muestreo, donde se localiza Alcalá del Río y en la que junto a la actividad urbana existe una amplia zona destinada a la agricultura. A partir de aquí se produce una disminución en el contenido de nitratos, que alcanzan un valor mínimo coincidiendo con la desembocadura del Rivera de Huelva y que podría

estar ocasionado por el menor contenido en nitratos, inferiores a $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, en sus aguas (Confederación Hidrográfica del Guadalquivir, 2004). A partir de este punto las concentraciones de esta variable aumentan y mantienen un valor prácticamente constante entre las estaciones G-5 y G-11, que comprenden tanto el área de mayor influencia urbana como aquella donde los cultivos agrícolas son la principal actividad de la zona. Esto constata la importancia que ambas fuente, urbana y agrícola, ejercen sobre los contenidos de nitratos en las aguas del río Guadalquivir.

En la zona de la desembocadura se observa una tendencia general a disminuir la concentración de nitratos al aumentar la salinidad debido a la dilución ocasionada por la entrada de agua de mar con menor contenido en nitratos. Esta tendencia se frena temporalmente entre las estaciones G-17 y G-21, que corresponden a la desembocadura del caño Brenes y a Sanlúcar de Barrameda respectivamente, coincidiendo con un descenso de oxígeno disuelto y que podría marcar la influencia de la actividad urbana en esta zona.

2. Amonio

El contenido de amonio en aguas naturales se ha relacionado en numerosas ocasiones con la existencia de fuentes contaminantes de origen urbano, tal y como se recoge en la introducción del presente trabajo. En la figura III.12 se han representado las concentraciones medias de amonio en las aguas del río Guadalquivir frente a la distancia desde el primer punto de salinidad “cero” para cada una de las tomas de muestra realizadas.

Es necesario indicar que, de forma similar a lo que ocurría con los nitratos, las concentraciones de amonio en el presente trabajo están expresadas como concentración de nitrógeno amoniacal.

Toma1. Marzo de 2001

En esta toma las concentraciones de amonio en el río Guadalquivir se encontraban en el rango de $38,8\text{-}420,7 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con valores medios de $201,4 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. En la figura III.12 se observa cómo la concentración de amonio en la zona urbana se mantienen uniforme, comenzando a aumentar al acercarnos a la zona agrícola. El amonio es un elemento que se ha relacionado en múltiples ocasiones con la existencia de actividades urbanas, principalmente con la descarga de efluentes de aguas residuales

(Balls y col., 1996; Robson y Neal, 1997b; Chen y col., 2004). En este caso aunque los máximos no aparecen en la zona urbana, sí se observa un ligero aumento en la estación G-7, coincidiendo con la existencia de efluentes de aguas residuales tratadas de algunas de las estaciones depuradoras existentes en la ciudad de Sevilla.

Los máximos para el amonio se encontraron en la zona más agrícola del río, uno de ellos justo antes de la desembocadura del Guadaira y el otro coincidiendo con la desembocadura del Brazo del Este, ambos en zonas donde el cultivo del arroz se encuentra muy extendido.

Los mínimos valores se registraron en la zona de la desembocadura, sin poder establecer una tendencia clara entre la concentración de amonio en el agua y la salinidad de la muestra.

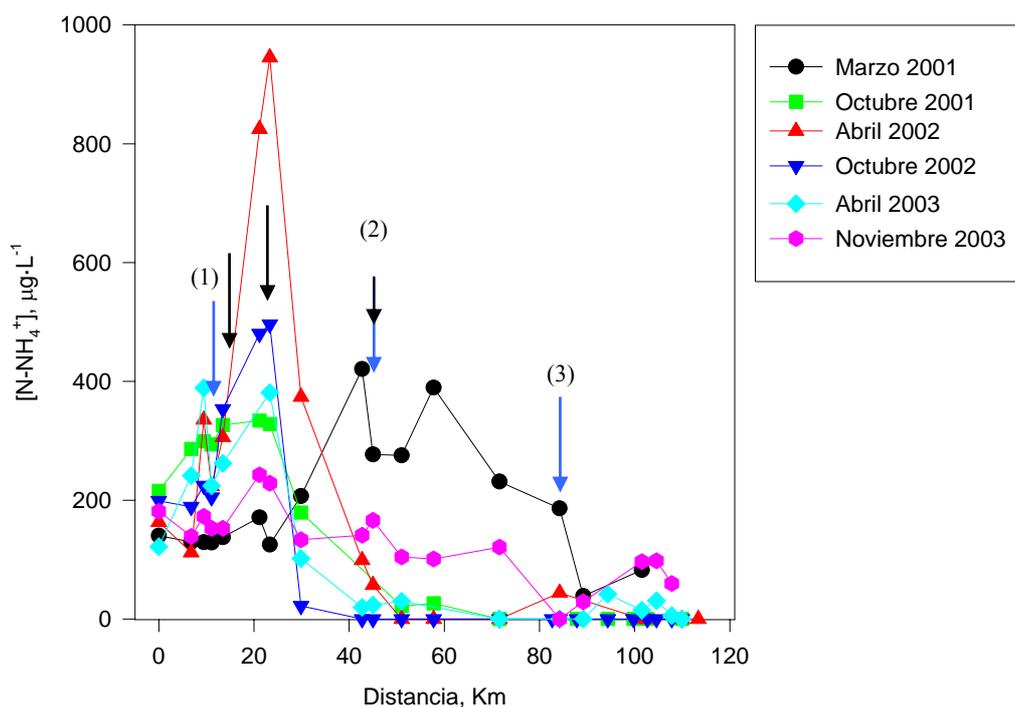


Figura III.12. Concentración de nitrógeno amoniacal en las aguas del río Guadalquivir. → Afluentes: (1) Rivera de Huelva, (2) Río Guadaira, (3) Brazo de la Torre; → EDAR

Toma 2. Octubre de 2001

En este caso las concentraciones de amonio en el río estuvieron en el rango de 2,4-333,8 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de 135,8 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Durante este período de bajo caudal las concentraciones en la cabecera del río fueron similares a las de la toma de primavera, pero el aumento se produjo en la zona urbana, coincidiendo con los efluentes de las estaciones depuradoras de aguas residuales (EDARs) de San Jerónimo y Tablada, por un efecto similar al explicado para los nitratos

A medida que nos alejamos de los efluentes de las EDARs hacia la zona intermedia las concentraciones van siendo menores hasta llegar a valores no cuantificables. Esta situación se prolonga a lo largo del resto del río hasta la desembocadura. Neal y col. (2000b) también observaron un aumento en las concentraciones de amonio en el río Kennet cerca del vertido de efluentes de aguas residuales tratadas, descendiendo al alejarnos del vertido por la oxidación de amonio a nitritos y nitratos.

Toma 3. Abril de 2002

Las concentraciones de amonio durante esta toma de muestras se encontraron en el intervalo de 2,4-945,1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de 193,6 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. El perfil fue más parecido al que se obtuvo durante el periodo de bajo caudal que el correspondiente a la primavera del año anterior. De nuevo se encuentra un aumento en las concentraciones de amonio en la zona de vertido de aguas residuales tratadas, pero en este caso los valores fueron unas tres veces mayores, con el máximo en la estación de Tablada. Robson y Neal. (1997b) encuentran que para caudales altos las concentraciones de amonio aumentan, lo que podría explicar este aumento con respecto al muestreo anterior. No obstante, para el muestreo de marzo de 2001 los caudales eran superiores a los de esta toma de muestras, por lo que cabría esperar que las concentraciones de amonio también hubieran sido mayores cosa que no ocurrió. Aunque estos mismos autores señalan que para caudales excesivamente altos se observa el efecto contrario debido a un aumento en la dilución, lo cual podría explicar las menores concentraciones en la toma de marzo, es probable que estos valores anormalmente altos correspondan a una situación puntual de mal funcionamiento de la planta de tratamiento de aguas residuales o a algún otro tipo de vertido no controlado que estuviera activo en el

momento del muestreo. Esta hipótesis parece más probable porque a pesar de que en marzo el caudal era más alto los valores medios de concentración resultaron mayores, con lo que no parece que la dilución sea el motivo de esa diferencia en la concentración de amonio entre las dos épocas de lluvias.

Al igual que en los otros periodos de muestreo, a medida que nos alejamos de la zona urbana volvemos a observar un descenso en las concentraciones de amonio hasta llegar a valores inferiores al límite de detección.

Toma 4. Octubre de 2002

En esta toma de muestra se encontraron concentraciones de amonio en el rango de 2,40-496,1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ con valores medios de 98,6 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. El perfil de concentraciones fue prácticamente el mismo que en las dos tomas anteriores, con valores máximos en la zona urbana y concretamente coincidiendo con el efluente de la EDAR de Tablada, descendiendo en este caso muy rápidamente al alejarse de los efluentes de las EDARs. De nuevo a lo largo de la desembocadura las concentraciones de amonio no superan el límite de detección del método de análisis utilizado, por lo que no se puede establecer cuál es el comportamiento de este parámetro frente a la salinidad.

Toma 5. Abril de 2003

El contenido de amonio en las aguas del río Guadalquivir para esta toma de muestras se mantuvo en el rango 2,40-381,2 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con valores medios de 104,84 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. En la figura III.12 se observa cómo de nuevo se repite el perfil de las tomas anteriores, volviendo a aparecer el máximo contenido en amonio en el área urbana. A partir de aquí se produce una fuerte disminución en la concentración de amonio hasta alcanzar valores por debajo del límite de detección, aunque se puede observar una tendencia a disminuir cuando la salinidad aumenta.

Toma 6. Noviembre de 2003

Durante esta toma de muestras se registraron concentraciones de amonio entre los valores de 2,40-242,7 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con medias de 128,9 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Aunque el perfil es bastante similar al encontrado en los otros muestreos, en este caso el máximo correspondiente a la zona urbana es mucho más bajo. De hecho, las concentraciones de

amonio a lo largo de toda el área fluvial no presentan grandes variaciones hasta la zona estuárica. En este último tramo del río, a partir de la desembocadura del Brazo de la Torre, parece existir un ligero aumento de la concentración, hecho ya observado durante la primera y la quinta toma.

Variaciones estacionales y espaciales

En el caso del amonio, debido a la falta de normalidad de los datos que no pudo establecerse mediante ninguna de las transformaciones realizadas (logaritmo, raíz cuadrada, etc...) fue necesario realizar el test de Kruskal-Wallis para establecer la existencia de diferencias espacio-temporales. Los resultados de dicho test, que se presentan en el anexo 5, no establecen diferencias significativas entre los diferentes muestreos realizados, aunque sí entre las zonas muestreadas. Para estudiar en detalle las tendencias espaciales de las concentraciones de amonio en las aguas del río Guadalquivir se han representado en la III.13 gráficas de cajas y bigotes para cada una de las estaciones de muestreo teniendo en cuenta todos los muestreos realizados.

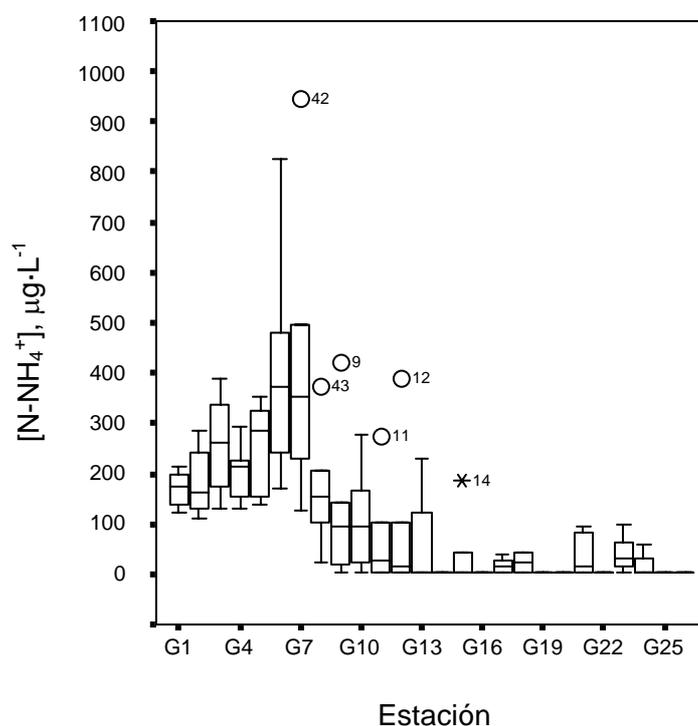


Figura III.13. Gráfica box-plot para amonio.

Como se observa en la figura, las concentraciones de amonio experimentan un aumento desde la primera estación de muestreo, exceptuando una pequeña disminución en la desembocadura del Rivera de Huelva (G-4) al igual que ocurría con los nitratos. El máximo se alcanza coincidiendo con la ciudad de Sevilla y la zona de vertido de dos de las cuatro depuradoras que tiene la ciudad. Como se ha indicado con anterioridad, las otras dos depuradoras no vierten sus efluentes directamente al río Guadalquivir, sino que llegan a él a través del río Guadaira. Este río desemboca en el Guadalquivir a una distancia de unos 20 Km desde los puntos de vertido de aguas residuales, por lo que las aguas que llegan al Guadalquivir han podido sufrir distintos procesos que minimicen su efecto sobre las concentraciones de amonio. El único muestreo en el que se observó un máximo coincidiendo con la desembocadura de este río fue el de marzo de 2001. No obstante, este máximo no se atribuye al efecto del río Guadaira, sino que se correspondería con un desplazamiento espacial del máximo que aparece habitualmente ligado a las estaciones depuradoras antes citadas, desplazamiento que puede ser atribuido al alto caudal del río y a una menor penetración del agua de mar. Esta explicación se encuentra reforzada por los desplazamientos hacia la desembocadura de los perfiles observados para las variables conductividad y sólidos en suspensión durante este primer muestreo (ver figura III.2 y figura III.8). Petersen y col. (1998) detectan en el río Elba un desplazamiento similar en el gradiente de salinidad en el estuario durante los meses de mayor caudal del río, lo que supuso que en el punto de toma de muestra del estuario se observara un incremento de la materia suspendida más contaminada procedente de la zona más fluvial del río.

En la desembocadura es difícil establecer una relación entre las concentraciones de amonio y la salinidad, ya que habitualmente se encontraron por debajo del límite de detección del método. No obstante a partir de los datos de algunos muestreos se intuye que la concentración de amonio experimenta una disminución con el aumento de salinidad, debido a la dilución originada por el agua de mar entrante.

En el tramo del río Guadalquivir estudiado, parece que el amonio es introducido en el sistema principalmente a partir de los efluentes de aguas residuales tratadas, siendo sus concentraciones mayores o menores según el volumen de estos efluentes y de la calidad del tratamiento que han recibido y no de la época del año.

3. Nitritos

Los nitritos son importantes en la caracterización de las aguas porque son compuestos que se originan como intermedios en las reacciones entre los compuestos nitrogenados y no tiene un origen natural. Las concentraciones de nitritos en el río Guadalquivir se muestran en la figura III.14 en función de la distancia a la primera estación de muestreo, tomada como kilómetro cero. En este caso, de forma similar a lo que ocurría con los nitratos y el amonio, las concentraciones de nitritos se refieren en todo momento a la concentración de nitrógeno nitroso.

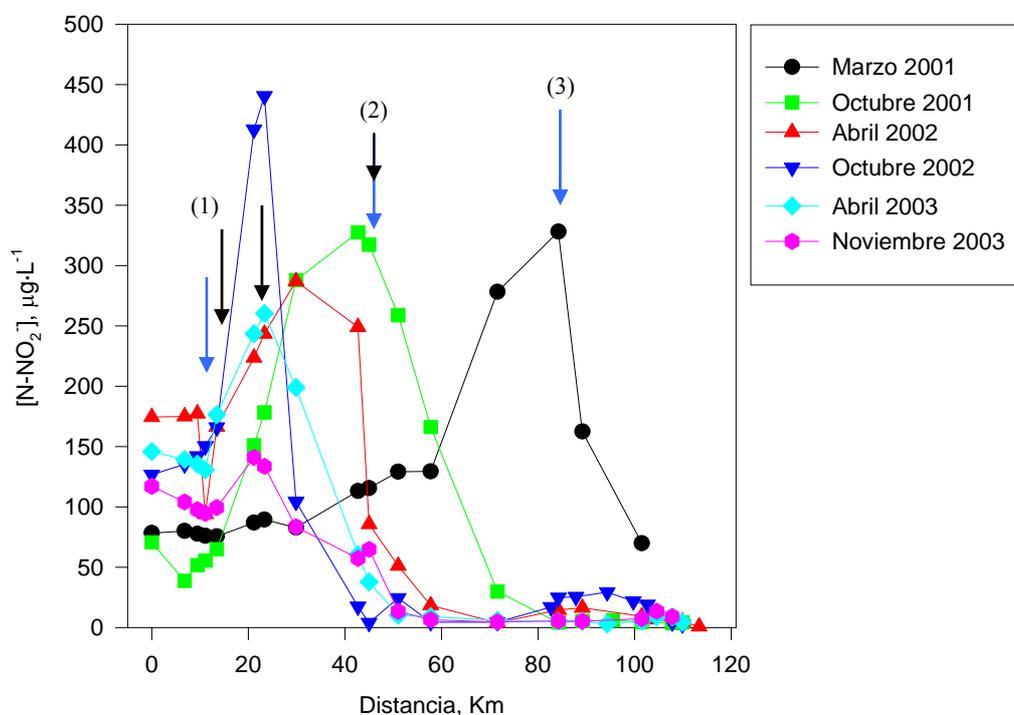


Figura III.14. Concentración de nitrógeno nitroso en las aguas del río Guadalquivir. → Afluentes: (1) Rivera de Huelva, (2) Río Guadaira, (3) Brazo de la Torre; → EDAR

Toma 1. Marzo de 2001

Las concentraciones de nitritos en este período variaron en el rango de 69,9-328,0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de 121,81 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Si se observa la figura III.14 puede comprobarse que esta toma de muestras presenta una vez más un comportamiento excepcional en el perfil de las concentraciones de nitritos. En toda la zona urbana se

registraron concentraciones similares con tendencia a aumentar hacia la desembocadura, apareciendo desplazada la zona de mayores concentraciones. En este caso, las máximas concentraciones se alcanzaron en la desembocadura del Brazo de la Torre, comenzando después un rápido descenso al aumentar la salinidad.

Toma 2. Octubre de 2001

En esta toma las concentraciones de nitritos variaron entre 3,6-317,2 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de 106,6 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. El contenido en nitritos comienza a aumentar al acercarnos a la zona urbana, encontrándose el máximo al final de ésta y después del vertido de aguas residuales tratadas. A lo largo de la zona intermedia del río las concentraciones de nitritos disminuyen considerablemente, hasta alcanzarse valores inferiores a 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ en la desembocadura.

En la zona de salinidad, se observa un pequeño repunte entre los kilómetros 90 y 110 aproximadamente, el cual podría estar asociado a la existencia en esta zona de la población de Sanlúcar de Barrameda y que ya había sido observado para nitratos y sólidos en suspensión.

Toma 3. Abril de 2002

Las concentraciones de nitritos determinadas en esta toma estuvieron en el rango de 0,9-287,0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con valores medios de 105,4 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. En consonancia con lo observado para los nitratos, en la cabecera del río se hallaron concentraciones más altas que las correspondientes a la toma de la primavera anterior, aumentando después hasta alcanzar su máximo en la zona de Sevilla, cerca del vertido de la EDAR Tablada. A lo largo de la zona intermedia del río las concentraciones descienden hasta valores inferiores a 15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, mostrando un comportamiento con la salinidad similar al hallado en la toma anterior.

Toma 4. Octubre de 2002

En esta toma se encontraron concentraciones de nitritos en el rango de 2,8-440,5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de 85,8 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. De nuevo las concentraciones fueron en aumento desde la cabecera del río hasta la situación de la EDAR Tablada, donde aparece el máximo. A partir de aquí se produce un descenso, mucho más rápido que en

las dos tomas anteriores. De modo que en la zona intermedia del río ya se encuentran valores de nitritos inferiores a $25 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. A lo largo del resto del río y hasta la desembocadura las concentraciones de nitritos no superan este valor, mostrando de nuevo el mismo comportamiento en la zona salina que en las dos tomas de muestras anteriores.

Toma 5. Abril de 2003

Las concentración de nitritos en esta toma de muestra se mantuvieron dentro del intervalo $3,0\text{-}260,2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con valores medios de $79,8 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Los máximos valores se localizaron de nuevo en la zona urbana, coincidiendo con los máximos de amonio. A partir de esta zona las concentraciones de nitritos disminuyen rápidamente hacia la desembocadura, donde alcanza un mínimo en la salinidad 10 después del cual se produce un ligero aumento para volver a bajar. Este aumento también se relaciona con el experimentado por los nitratos coincidiendo con una disminución del oxígeno disuelto.

Toma 6. Noviembre de 2003

Durante esta toma de muestras las concentraciones de nitritos estuvieron dentro del intervalo de $4,7\text{-}141,0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de $58,8 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. En este caso, y tal y como ocurría con el amonio, el máximo de la zona urbana fue muy inferior al observado en las otras tomas de muestra, disminuyendo muy rápidamente hacia la desembocadura. Toda la zona agrícola y el estuario presentaron concentraciones muy bajas, sin observarse un comportamiento claro de estas concentraciones frente al cambio de salinidad, aunque existe nuevamente un repunte en la zona de Sanlúcar de Barrameda.

Variaciones estacionales y espaciales

Al igual que para el resto de las variables estudiadas, para establecer la existencia de variaciones espacio-temporales para las concentraciones de nitritos se realizó un test estadístico de comparación. En este caso fue necesario recurrir a la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis debido a la falta de homogeneidad de las varianzas. Los resultados del test, recogidos en el anexo 5, concluyeron que no existían

diferencias significativas entre los diferentes muestreos, descartando la dependencia estacional, aunque sí encontró diferencias espaciales. Al igual que con los otros parámetros se han representado en la figura III.15 las gráficas de box-whisker para cada estación de muestreo teniendo en cuenta todas las tomas de muestra realizadas con el fin de establecer un perfil general de variación espacial de las concentraciones de nitritos a lo largo de la zona de estudio.

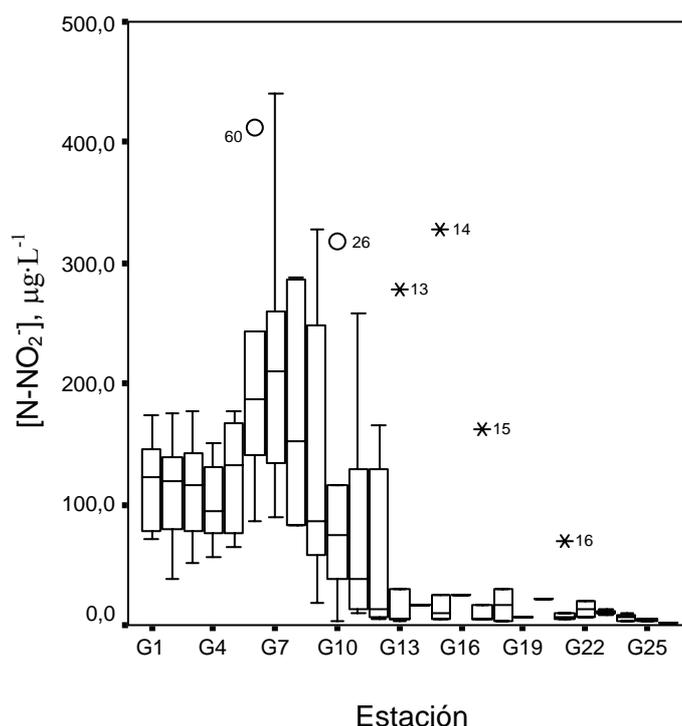
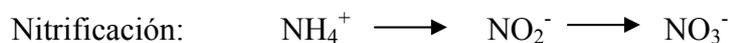
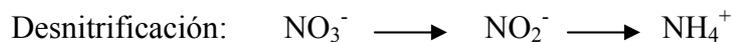


Figura III.15. Gráfico box-plot para nitritos.

Como se observa en la figura, las concentraciones de nitritos en el primer tramo del río se mantuvieron con pocas variaciones hasta alcanzar la zona más urbana, donde experimentan un aumento. Los máximos se alcanzan en las estaciones correspondientes a la entrada de efluentes de aguas residuales, y a partir de aquí se produce un descenso hasta la desembocadura.

En la zona estuárica los valores de nitritos fueron muy bajos, y mostraron una tendencia general a disminuir con la salinidad, aunque al igual que en el caso de los nitratos (ver figura III.11) y los sólidos en suspensión (ver figura III.9), las estaciones próximas a Sanlúcar de Barrameda se salieron de esta tendencia.

En el caso de los nitritos, este nutriente no tiene un origen natural, sino que aparece como intermedio de reacción cuando se produce la nitrificación y la desnitrificación (o denitrificación).



En un curso de agua en movimiento, como es el caso del río Guadalquivir, este tipo de reacciones pueden observarse espacialmente, por lo que se han representado en la figura III.16 los valores medios de amonio, nitritos y nitratos.

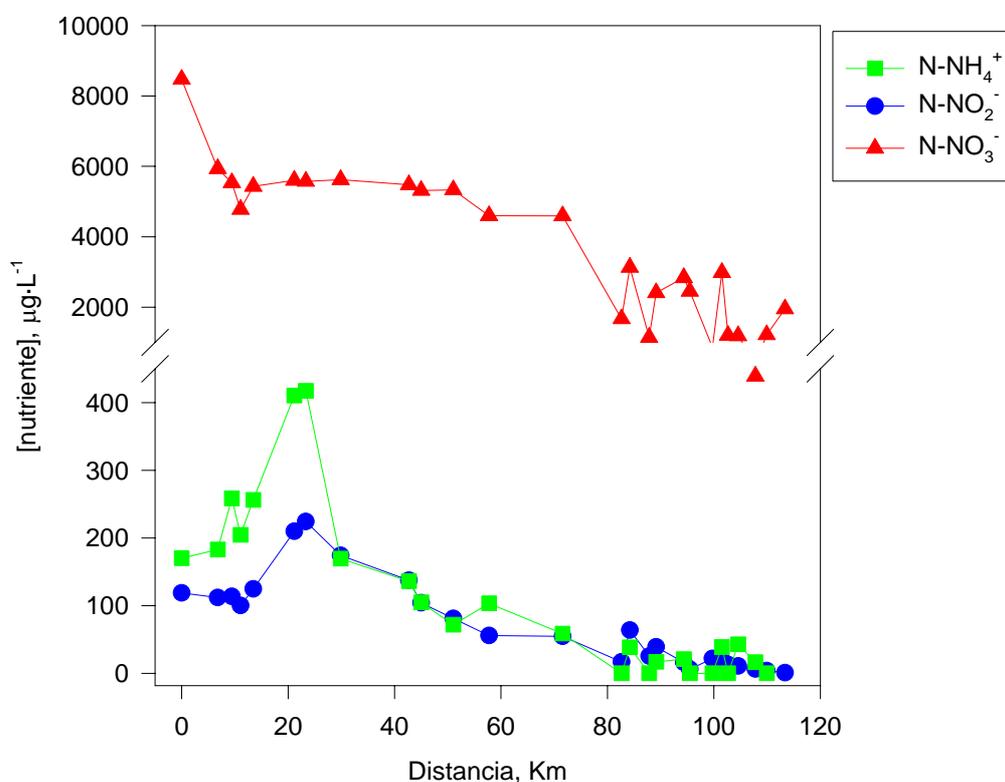


Figura III.16. Valores medios de las concentraciones de amonio, nitritos y nitratos en las aguas del río Guadalquivir.

En este caso lo más lógico es pensar que está teniendo lugar el proceso de nitrificación, ya que existe un alto contenido en amonio. Pero para que esta oxidación tenga lugar es necesaria la presencia de oxígeno, que a medida que se va consumiendo

generaría más nitritos y finalmente nitratos. Si se mira de nuevo la figura III.7, con el perfil del oxígeno disuelto, puede observarse que el mínimo para dicho parámetro se encuentra ligeramente desplazado hacia la desembocadura respecto a los máximos de amonio y nitritos. Al mismo tiempo, el máximo de nitritos se mantiene algunas estaciones más que el del amonio. Estos cambios espaciales pueden explicar también un comportamiento temporal, ya que se trata de un curso de agua en movimiento. Así, en las estaciones G-6 y G-7 se produce un importante aumento de amonio debido a las aguas residuales tratadas, y el oxígeno disuelto disminuye ligeramente en este punto al ir pasando dicho amonio a nitritos, por lo que además se explicaría el máximo de nitritos en estos mismos puntos. Posteriormente, en las estaciones G-8 y G-9 el contenido de amonio ha disminuido bruscamente, al igual que el oxígeno disuelto, pudiendo observarse aún concentraciones altas de nitritos. A partir de la estación número 11, el contenido en amonio en las aguas es ya mínimo, y comienza a recuperarse el oxígeno disuelto que deja de ser consumido en la nitrificación, y en otras reacciones de degradación de materia orgánica. En el estuario del río Scheldt (Francia) se observa un comportamiento espacial similar al que se acaba de describir, desarrollándose una zona anóxica en el primer tramo de estuario debido a la nitrificación y descomposición de materia orgánica y que en el final del estuario desaparece una vez que todo el amonio ha sido oxidado (Zwolsman y col., 1997).

Este tipo de reacciones repercute igualmente en el contenido de nitratos en las aguas del río Guadalquivir, aunque debido a otras fuentes, las concentraciones que aparecen en este río son muy altas en comparación con los contenidos de amonio y nitritos, lo que hace imposible apreciar los cambios debidos al proceso de nitrificación a excepción de la zona estuárica. Aquí los contenidos en nitratos son menores, y se observan aumentos relacionados con una mayor concentración de nitritos y amonio acompañada de una disminución de oxígeno disuelto.

4. Fosfatos

Las variaciones de la concentración de fosfatos en las aguas del río Guadalquivir se muestran en la figura III.17. A continuación se comentan detalladamente los resultados obtenidos para cada toma, así como las variaciones estacionales en las concentraciones de fosfatos.

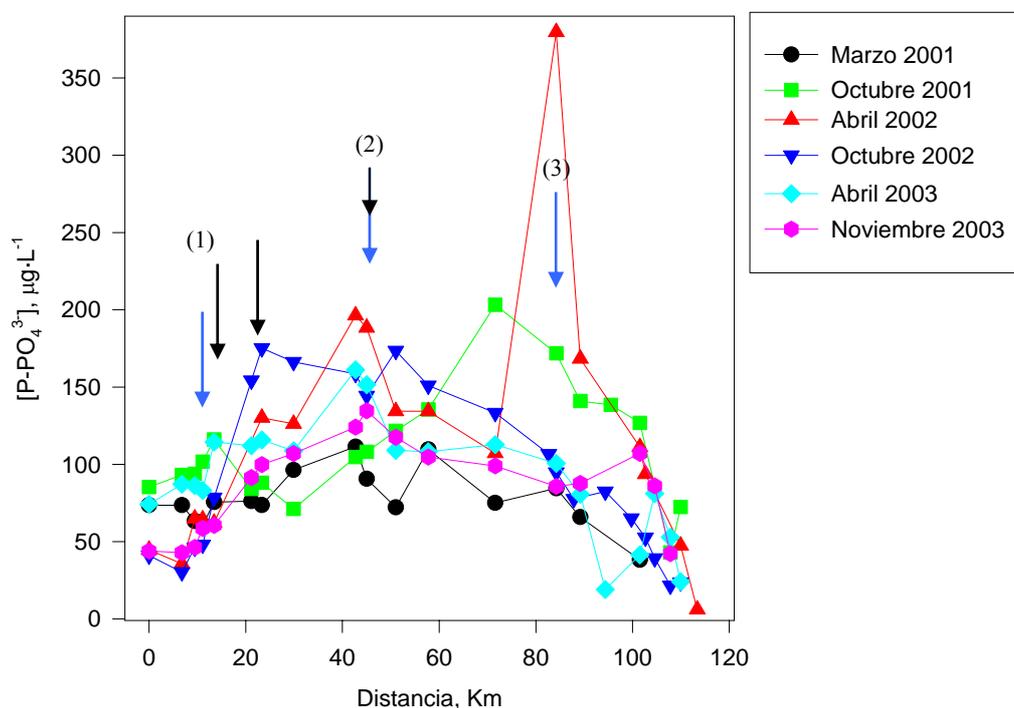


Figura III.17. Concentración de fosfatos en las aguas del río Guadalquivir. → Afluentes: (1) Rivera de Huelva, (2) Río Guadaira, (3) Brazo de la Torre; → EDAR

Toma 1. Marzo de 2001

Las concentraciones de fosfatos en esta toma se encontraron en el rango de 38,2-111,4 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de 75,3 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. No se encontraron variaciones importantes a lo largo del río, aunque el perfil se aproxima a una U invertida, con los valores más altos en la zona intermedia del río, correspondiendo con la zona más agrícola. Aunque los fosfatos pueden tener su origen en el uso de fertilizantes en la agricultura (Jain, 2002), han sido también relacionados con los efluentes de aguas tratadas (Marckich y Brown, 1998). En este caso no es posible establecer con claridad la magnitud de cada una de las fuentes que determina su comportamiento en el río Guadalquivir. En cuanto al comportamiento en la zona de la desembocadura se observa un descenso en la concentración de fosfatos al aumentar la salinidad, debido a la entrada de aguas marinas con bajos contenidos en fosfatos.

Toma 2. Octubre de 2001

Las concentraciones de fosfatos durante esta toma de muestras mostraron valores en el rango de 42,9-203,2 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de 110,5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. El perfil fue similar al encontrado en la toma anterior, pero con variaciones en las concentraciones más pronunciadas. Se puede observar cómo las concentraciones aumentan al ir avanzando en la zona agrícola, por lo que parece ser esta actividad la que controla los contenidos de fosfatos en el río Guadalquivir, la máxima concentración se alcanza en torno al kilómetro 70 de la zona estudiada, coincidiendo con un repunte de los nitratos, lo que confirma en este caso el origen agrícola. De cualquier modo también se observa un ligero aumento en la zona de vertido de las aguas residuales tratadas, aunque bastante menos pronunciado. En la zona de la desembocadura el comportamiento vuelve a ser el mismo, disminuyendo las concentraciones al aumentar la salinidad, aunque esta disminución se frena alrededor del kilómetro 100 en las proximidades de Sanlúcar de Barrameda, coincidiendo con un comportamiento similar de otros parámetros (sólidos en suspensión, nitratos, nitritos).

Toma 3. Abril de 2002

En este caso los fosfatos estuvieron en el rango de concentraciones de 6,1-379,6 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de 109,1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. De nuevo encontramos un perfil de concentraciones similar al de tomas anteriores, aumentando desde la zona de la cabecera hacia la parte agrícola, donde se registran los máximos coincidiendo con la desembocadura del río Guadaira. De nuevo la fuente agrícola parece ser la que controla la entrada de fosfatos en el río. En esta toma cabe destacar la concentración anormalmente alta que se detecta en la desembocadura del Brazo de la Torre, viniendo ésta relacionada con valores igualmente anómalos de ciertos metales pesados, evidenciando la existencia de algún aporte ocasional. A partir de aquí y como se ha visto en los otros muestreos las concentraciones disminuyen al ir aumentando la salinidad.

Toma 4. Octubre de 2002

En esta toma las concentraciones de fosfatos variaron entre 21,6-175,1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de 93,83 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, mostrándose un comportamiento similar a las

tomas anteriores, aunque alcanzándose los valores máximos en una zona ligeramente superior.

En la zona de la desembocadura la tendencia es a disminuir con la salinidad, pero de forma similar a lo que ocurre en otras tomas de muestra este descenso se frena ligeramente en el área de influencia urbana de Sanlúcar de Barrameda.

Toma 5. Abril de 2003

Durante esta toma de muestra el contenido en fosfatos de las aguas del río Guadalquivir se mantuvo en el rango de 18,9-161,1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de 91,2 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. El comportamiento de la concentración de fosfatos a lo largo del río se mantiene idéntico al obtenido anteriormente, con los máximos valores localizados en la zona agrícola. Y a medida que se produce la mezcla de las aguas fluviales con las marinas se observa una disminución progresiva al aumentar la salinidad. En este caso, junto con la sexta y última toma, se observa con mayor claridad que en las anteriores un repunte en las concentraciones de fosfatos en la zona comprendida entre los kilómetros 90 y 110, de forma análoga a lo observado en otras variables que puede relacionarse con la influencia del núcleo urbano de Sanlúcar de Barrameda.

Toma 6. Noviembre de 2003

En esta última toma de muestra las concentraciones de fosfatos en el río Guadalquivir estuvieron dentro del intervalo de 42,2-134,7 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de 85,5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. De nuevo aparece con claridad el perfil anteriormente descrito, esta vez con los valores más altos finalizando el área urbana y a lo largo de toda el área agrícola. De nuevo se puede observar cómo la mezcla con el agua de mar produce en general una disminución en las concentraciones de fosfatos, comportamiento que se ve alterado alrededor del kilómetro 100 como ya se ha descrito para otras tomas de muestra.

Variaciones estacionales y espaciales

Para el estudio de las variaciones espaciales y temporales en las concentraciones de fosfatos fue necesario aplicar el test de Kruskal-Wallis debido a la falta de homogeneidad de las varianzas de las series a comparar. De los resultados obtenidos se concluye que existen variaciones entre las zonas muestreadas pero no entre los

muestreos, por lo que se puede afirmar que no existen variaciones estacionales de la concentración de fosfatos en el río Guadalquivir. Para realizar el estudio de las variaciones se han presentado en la figura III.18 las gráficas de cajas y bigotes para cada estación de muestreo, tal y como se ha hecho para las demás variables.

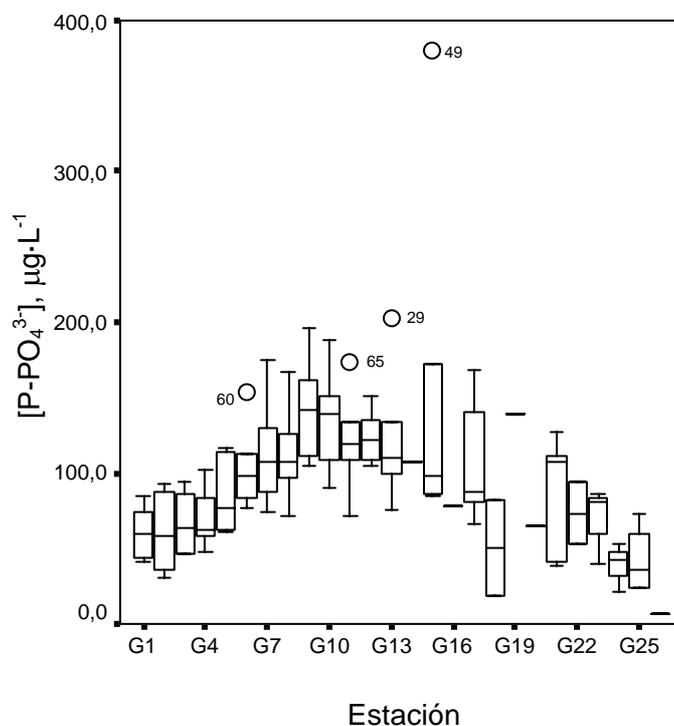


Figura III.18. Gráficos box-plot para fosfatos.

En la figura se aprecia con gran claridad el perfil en forma de U invertida que se ha descrito anteriormente. Los máximos se encuentran localizados en la zona agrícola del río, teniendo muy posiblemente su origen en el uso de fertilizantes y/o plaguicidas utilizados en los cultivos. Aunque cabe señalar que, a diferencia que en el caso de los nitratos ligados también al uso de este tipo de compuestos, los fosfatos no presentan un aumento en la zona de Alcalá del Río. Esta diferencia puede ser debida a que los cultivos presentes en ambas zonas no son los mismos, por lo que las necesidades de fertilizantes no serán las mismas. Así, en la primera parte del río destacan los cultivos intensivos de invierno, como el algodón, mientras que en la zona más cercana a la desembocadura cobran una mayor importancia los cultivos de regadío y especialmente el arroz. Finalmente, al igual que para otros parámetros, al aumentar la salinidad se produce un descenso paulatino en la concentración de fosfatos debido a la dilución

originada por el agua de mar, aunque este comportamiento se ve ligeramente alterado debido a las actividades antropogénicas desarrolladas en la población de Sanlúcar de Barrameda.

Metales mayoritarios

Como ya se ha comentado, dentro de este grupo de metales se incluyen aquellos que se encontraron en una concentración más alta y que resulta suficiente para ser determinada mediante el análisis directo en horno de grafito, es decir, el cobre y el manganeso. A continuación se presentan los resultados obtenidos para cada uno de ellos en las diferentes tomas de muestra.

1. Cobre

En la figura III.19 se presentan las concentraciones de cobre determinadas en las aguas del río Guadalquivir en cada estación de muestreo y para cada una de las tomas de muestra.

Toma 1. Marzo de 2001

En este muestreo la concentración de cobre en las aguas del río Guadalquivir se mantuvo en el rango de 1,6-2,7 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de 2,1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, no mostrando variaciones significativas con la distancia durante esta toma de muestras. En general, los valores más bajos correspondieron al final de la zona urbana, mostrando un pequeño aumento en las cercanías de la desembocadura del Brazo de la Torre. A partir de este punto el contenido en cobre de las aguas disminuye al aumentar la salinidad, como consecuencia de la dilución.

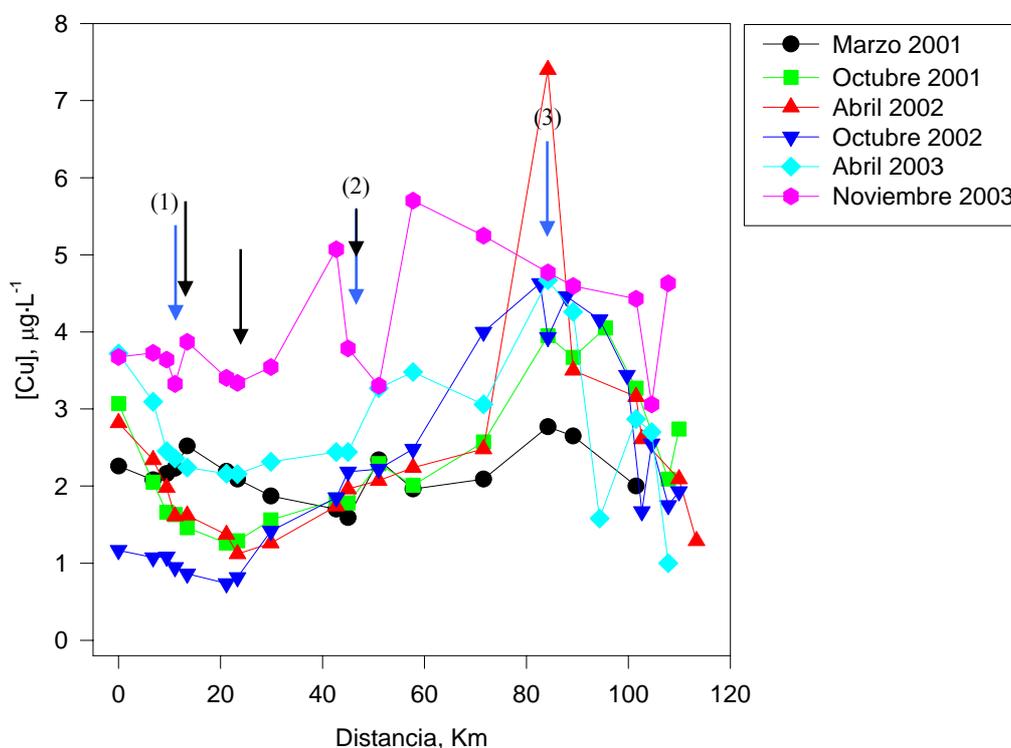


Figura III.19. Concentración de cobre en las aguas del río Guadalquivir. → Afluentes: (1) Rivera de Huelva, (2) Río Guadaira, (3) Brazo de la Torre; → EDAR

Toma 2. Octubre de 2001

Como se observa en la figura III.19 la concentración de cobre en el río se mantuvo en el rango de $1,2-4,0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de $2,3 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. En esta toma de muestras se observaron algunas características más marcadas respecto a los resultados obtenidos durante el mes de marzo. Cabe destacar la alta concentración de cobre que aparece en el primer punto de muestreo, correspondiendo a Alcalá del Río, de forma similar a lo que ocurría en el caso de los nitratos (ver figura III.10) lo que podría indicar un origen agrícola del cobre en esta zona que ya ha sido descrito en otras zonas (Linde y col., 1995). A partir de aquí los contenidos disminuyen a lo largo de la zona urbana para aumentar a lo largo de toda la zona agrícola, dando lugar a un perfil en forma de U hasta que alcanza la desembocadura, donde los contenidos más altos se detectaron en la zona de la desembocadura del Brazo de la Torre.

En la zona de la desembocadura la concentración de cobre disminuye al aumentar la salinidad, al igual que en la toma de muestra anterior, gracias a la dilución originada por el agua de mar, que en la zona del Golfo de Cádiz correspondiente a la desembocadura del Guadalquivir presenta concentraciones entre 0,38-0,76 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (Elbaz-Poulichet y col., 2001).

Toma 3. Abril de 2002

Durante esta toma de muestra las concentraciones de cobre se encontraron dentro del intervalo de 1,1-7,4 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con una concentración media de 2,35 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. En este caso, tal como se observa en la figura III.19, tanto el perfil que presentaron las concentraciones de cobre a lo largo del río como los niveles en que se encontraron fueron prácticamente los mismos que durante la toma anterior. Sólo cabe destacar el valor anormalmente alto detectado en la desembocadura del Brazo de la Torre, coincidiendo también con concentraciones anormalmente altas de otras variables como fosfatos o manganeso, lo que podría indicar una misma fuente para estos parámetros.

Toma 4. Octubre de 2002

Las concentraciones de cobre durante esta toma de muestras se encontraron dentro del rango de 0,7-4,7 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de 2,24 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. De nuevo el perfil es similar al obtenido para las dos tomas de muestras anteriores, aunque en este caso las concentraciones en la primera zona del río fueron más bajas. También se observa el aumento de las concentraciones a lo largo de la zona agrícola, alcanzando el máximo en la desembocadura del Brazo de la Torre.

Toma 5. Abril de 2003

En este caso las concentraciones de cobre en las aguas del río Guadalquivir se encontraron en el rango de 1,0-4,7 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de 2,75 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Aunque las concentraciones fueron algo más elevadas que en tomas anteriores el perfil a lo largo del río fue el mismo, con una disminución en la zona urbana y un aumento progresivo a lo largo del área agrícola. El máximo se localizó nuevamente en las proximidades del Brazo de la Torre y a partir de aquí las concentraciones tienden en general a disminuir con la salinidad.

Toma 6. Noviembre de 2003

Durante esta toma de muestras las concentraciones de cobre estuvieron en el intervalo de 3,0-5,7 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de 4,06 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, y el perfil que presentaron no era tan claro como en las otras tomas de muestra. De este modo, en la primera parte del río permanecen con pocas variaciones, aunque disminuyen ligeramente al final del área urbana. A partir de aquí comienzan a aumentar, tal y como ocurría en otras tomas de muestra, pero en la desembocadura del río Guadaira aparece un mínimo que no se había observado anteriormente y rompe el perfil en U propio de esta variable.

En la desembocadura del Brazo del Este aparece el máximo de esta toma, pudiendo relacionarlo con el aumento de las escorrentías agrícolas durante este muestreo, y a partir del cual las concentraciones de cobre disminuyen lentamente a medida que aumenta la salinidad.

Variaciones estacionales y espaciales

Para establecer la existencia de variaciones en las concentraciones de cobre se aplicó a los resultados el análisis de la varianza de dos factores tal y como se recoge en el anexo 4 del presente trabajo. Los resultados de este análisis indican que existen diferencias significativas debidas a ambas fuentes de variación, por lo que se aplicó el test de Tuckey para establecer dónde se encontraban estas diferencias. En vista de los resultados obtenidos, realmente no puede afirmarse que existan dependencias estacionales para esta variable en las aguas del río Guadalquivir, ya que sólo el último muestreo resultó significativamente distinto de los demás. De este modo, como se ha hecho con las otras variables, se estableció un perfil de variación espacial para las concentraciones de cobre en la zona de estudio mediante la realización de cajas de box-whisker para cada estación de muestreo que se presentan en la figura III.20.

En general, los valores obtenidos están en consonancia con los medidos por la Junta de Andalucía en las estaciones que conforman el Plan de Policía de Aguas y presentan idéntico perfil de variación espacial (Consejería de Medio Ambiente, 2001).

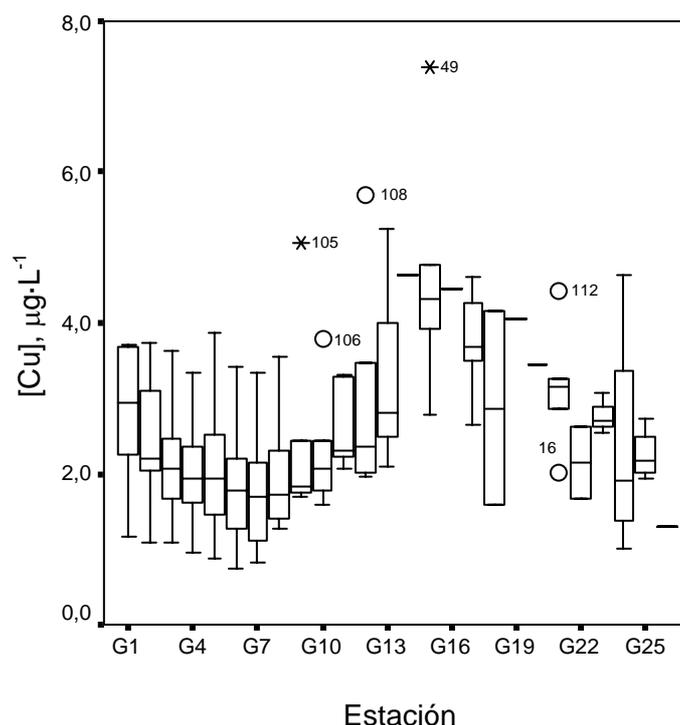


Figura III.20. Gráficos box-plot para el cobre.

En la figura se observa que las concentraciones de cobre en el área urbana son bajas y constantes en relación con el resto del río, exceptuando las primeras estaciones en la zona de Alcalá del Río. Este hecho no está relacionado con la existencia de los efluentes de aguas residuales, como ocurre en el caso del pH y del oxígeno disuelto, y se explica centrándonos en la zona donde aparece un aumento de la concentración. Dicho aumento se encuentra en el área agrícola, lo que parece indicar este origen para la concentración de cobre. Esta afirmación está avalada además por otros trabajos en los que este metal ya ha sido relacionado con la existencia de actividades agrícolas, ya que se encuentra en la formulación de muchos fertilizantes. Esta fuente podría explicar también las concentraciones altas de Alcalá del Río, hipótesis que refuerza el hecho de que las concentraciones de nitratos en esta zona son también elevadas y que esta zona no puede considerarse puramente urbana debido a la existencia de un elevado porcentaje (80%) de las tierras destinado a la agricultura, tal y como se ha descrito anteriormente.

Es necesario señalar algunos puntos importantes. En primer lugar, el máximo absoluto de concentración está situado en la estación número 15, coincidiendo con la desembocadura del Brazo de la Torre, que como ya se ha dicho constituyó la vía de

entrada de muchos metales procedentes de la rotura de la balsa minera de Aznalcóllar. Pero los valores más altos no pueden relacionarse con este incidente, ya que Achterberg y col. (1999) encontraron que seis meses después del accidente el estuario había recuperado los niveles de cobre que presentaba anteriormente ($0,1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). Por otro lado, la zona de máxima concentración coincide con el máximo de sólidos en suspensión, donde se sitúa la zona de máxima turbidez (ver figura III.8). Dassenakis y col. (1997) y Zwolsman y col. (1997) encontraron que la concentración de metal disuelto aumenta en la zona de baja salinidad, coincidiendo con un aumento de sólidos en suspensión debido a que los metales en fase particulada pasan a disolución por procesos de desorción debidos a la acción de intercambio iónico de la mayoría de los cationes presentes en el agua de mar. Para salinidades mayores el efecto de la dilución cobra mayor importancia pues, como dicen Braungardt y col. (1998), la concentración de cobre en el estuario del Guadalquivir es mayor que fuera, por lo que disminuye rápidamente a lo largo del estuario gracias a la mezcla con aguas atlánticas más limpias.

Esta disminución de la concentración a medida que aumenta la salinidad indica que el río Guadalquivir constituye una posible vía de entrada de cobre en al mar, como han señalado otros autores (Saenz y col., 2003; Achterberg y col., 1999). Estos mismos autores indican que en esta zona existió un comportamiento irregular de las concentraciones de cobre a lo largo del tiempo entre mayo de 1998 y junio de 2002, con un máximo anormalmente alto en septiembre de 1998. A pesar de estas irregularidades las concentraciones de cobre en la desembocadura presentan una tendencia general a disminuir a lo largo del tiempo, lo cual se observa más claramente si unimos los datos del presente trabajo al estudio realizado por Saenz y col. (2003). En dicho estudio las últimas concentraciones de cobre medidas en la desembocadura presentaron valores alrededor de $4 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, mientras que en el presente trabajo, si exceptuamos el valor anómalo de abril de 2002, las concentraciones de cobre fueron inferiores a ese valor. Aunque esta diferencia podría estar acusada además por la introducción de las técnicas limpias en el presente trabajo, que se traduciría en una disminución de la concentración gracias a la eliminación de las fuentes de contaminación durante el muestreo y tratamiento de las muestra.

2. Manganeseo

Las concentraciones de manganeso determinadas en las aguas del río Guadalquivir se muestran en la figura III.21 para cada estación de muestreo y cada una de las tomas de muestra realizadas.

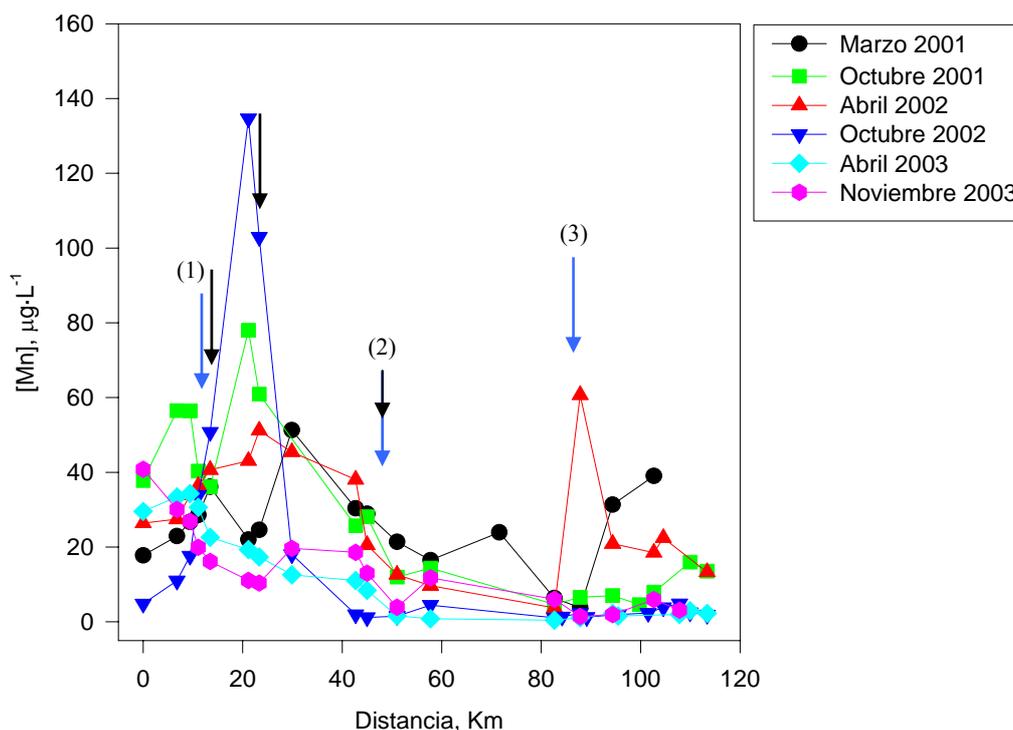


Figura III.21. Concentraciones de manganeso en las aguas del río Guadalquivir. → Afluentes: (1) Rivera de Huelva, (2) Río Guadaira, (3) Brazo de la Torre; → EDAR

Toma 1. Marzo de 2001

Como se observa en la figura III.21, durante esta toma de muestras la concentración de manganeso en las aguas del río Guadalquivir se mantuvo en el intervalo de 3,5-52,0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de 25,68 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Para este metal las concentraciones más altas se detectaron en la zona urbana, con un máximo relativo correspondiendo a un punto de vertido de aguas residuales tratadas y otro mayor en el punto correspondiente al final del área urbana. Villalba y col. (1995) ya relacionaron un aumento de manganeso en aguas subterráneas, con concentraciones superiores a 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con la existencia de residuos urbanos, y Karvelas y col. (2003) afirman que es,

junto con el níquel, uno de los metales con mayor concentración en fase disuelta en los efluentes de aguas residuales tratadas. Del mismo modo, Yang y Sañudo-Wilhelmy (1998) encuentran en el río Hudson (Nueva York) picos de manganeso en la zona de vertido de una depuradora de aguas residuales. A partir de este punto las concentraciones disminuyen hasta alcanzar la zona de la desembocadura, donde se observó un aumento con la salinidad.

Toma 2. Octubre de 2001

Durante esta toma de muestras la concentración de manganeso se encontró dentro del rango de $4,5-78,0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de $28,12 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. En este caso la concentración de manganeso comienza a aumentar desde el primer punto de toma de muestra y a lo largo de la zona urbana aparecen dos máximos. Uno de ellos se localiza en la zona de La Algaba, y el otro coincide con la ciudad de Sevilla y que guardan una gran similitud con los encontrados en el muestreo anterior aunque ligeramente desplazados aguas arriba. Este hecho da consistencia a la hipótesis planteada anteriormente de que durante la primera toma de muestras existió un desplazamiento de los perfiles de las variables estudiadas hacia la desembocadura debido al alto caudal del río y a una menor penetración del agua de mar.

A partir del último máximo la concentración de manganeso disminuye notablemente a lo largo de la última parte de la zona urbana y de toda la zona agrícola hasta aproximadamente el kilómetro 95, donde se observa un comportamiento totalmente contrario al que presenta el cobre, produciéndose un aumento de la concentración de manganeso al aumentar la salinidad. Yang y Sañudo-Wilhelmy (1998) afirman que la removilización de manganeso disuelto de las partículas en respuesta a cambios en la salinidad es un mecanismo importante que afecta a su concentración.

Toma 3. Abril de 2002

La concentración de manganeso en esta toma de muestras se mantuvo en el rango de $3,9-60,7 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de $27,83 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Aunque en este caso también se encontró un aumento de la concentración a lo largo de la zona urbana, dicho aumento fue más suave y progresivo que en las tomas anteriores, y continuó a lo largo de la zona agrícola. En la zona de la desembocadura se observa un máximo importante

en la desembocadura del Brazo de la Torre, coincidiendo con los valores anormalmente altos detectados en el contenido de fosfatos y cobre durante esta misma toma de muestras. A partir de este punto se produce una disminución en la concentración de manganeso a medida que la salinidad aumenta. Este comportamiento inverso al observado durante las tomas anteriores puede relacionarse con el aporte puntual ocurrido en la zona del Brazo de la Torre. Dassenakis y col. (1997) consideran que en estuarios contaminados la concentración de metal disuelto es mayor en las aguas fluviales que en las marinas, por lo que el proceso de dilución cobra más importancia. En el caso del Guadalquivir, las concentraciones de manganeso en las aguas marinas son inferiores a $2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (Elbaz-Poulichet y col., 2001; Achterberg y col., 1999).

Toma 4. Octubre de 2002

Para esta toma de muestras las concentraciones de manganeso se encontraron dentro del rango de $1,1\text{-}134,6 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de $18,45 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Aunque el comportamiento de la concentración de manganeso a lo largo del río fue similar al de las otras tomas, con los máximos en el área urbana, hay que destacar las altas concentraciones encontradas en la zona urbana de Sevilla, coincidiendo con un comportamiento similar de los nitritos. Como consecuencia, el descenso que se produce después es muy pronunciado y ya en la zona agrícola se encuentran concentraciones inferiores a $2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. En la desembocadura del Brazo de la Torre este valor aumenta ligeramente, y a medida que aumenta la salinidad se observa también un ligero aumento en el contenido de manganeso en las aguas.

Toma 5. Abril 2003

Las concentraciones de manganeso durante esta toma de muestras se mantuvieron en el rango de $0,4\text{-}34,3 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de $12,31 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Aunque el perfil que presentó el manganeso a lo largo del río es similar al de las tomas de muestra anteriores, las concentraciones en el área urbana fueron notablemente menores.

Toma 6. Noviembre de 2003

En esta toma de muestras las concentraciones de manganeso estuvieron en el intervalo de 1,4-40,8 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de 14,15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, y presentaron un perfil idéntico al del muestreo anterior. En este caso las concentraciones determinadas en el área urbana fueron aún menores, lo que podría indicar un mejor control de alguno de los vertidos presentes en la zona durante este año.

En la zona de la desembocadura la tendencia siguió mostrando un descenso de las concentraciones de manganeso al aumentar la salinidad.

Variaciones estacionales y espaciales

Para establecer las variaciones de las concentraciones de manganeso en las aguas del río Guadalquivir se pudo realizar el análisis de la varianza de dos factores después de realizar una transformación de los datos, mediante la raíz cúbica, para lograr cumplir el supuesto de normalidad de la población. Los resultados de dicho análisis, que se presentan en el anexo 5, indican que existieron diferencias significativas debidas a ambos factores, espacial y temporal. Pero en el caso de las temporales, como se desprende del test de Tuckey, éstas no presentaron un patrón estacional, ya que las diferencias se encontraron entre las tres primeras tomas respecto a las tres últimas. Ésto parece estar más relacionado con el hecho comentado anteriormente de una disminución en las concentraciones de la zona urbana durante el último año y con el valor anormalmente alto encontrado en esta zona durante el cuarto muestreo. En cuanto a las variaciones espaciales, se representaron para cada estación de muestreo las gráficas de cajas y bigotes teniendo en cuenta todos los muestreos realizados, que pueden observarse en la figura III.22.

Al igual que en el caso del cobre, el perfil obtenido fue concordante con los resultados que la Junta de Andalucía obtuvo en su Plan de Policía de Aguas (Consejería de Medio Ambiente, 2001).

Como se observa en la figura, las concentraciones de manganeso aumentan paulatinamente desde la primera estación de muestreo hasta la zona urbana, donde alcanzan su máximo entre las estaciones G-5 y G-7, en la zona donde se produce la salida de los efluentes de dos de las depuradoras de la ciudad de Sevilla. De hecho, Alonso (1998) determinó en los efluentes de estas dos depuradoras concentraciones de

171 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ y 49 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de manganeso, siendo uno de los metales que se encontraba en mayor concentración. Este hecho, junto con la disminución observada a lo largo del área urbana permite establecer una relación de los contenidos de manganeso con las actividades urbanas desarrolladas en la cuenca. Esta hipótesis se refuerza además con la existencia de un máximo en la zona de la desembocadura donde se encuentra el núcleo urbano de Sanlúcar de Barrameda. Por otro lado, el hecho de presentar un perfil similar al de otros parámetros relacionados con este origen, como por ejemplo el amonio, refuerza esta teoría.

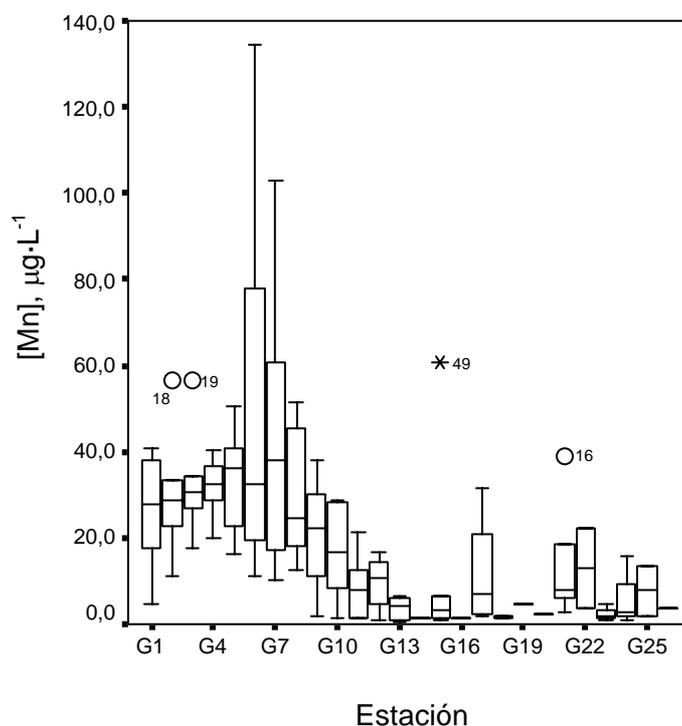


Figura III.22. Gráficos box-plot para manganeso.

Por otro lado, en la desembocadura la concentración de manganeso muestra una tendencia general a aumentar con la salinidad. Como ya se ha comentado este hecho se relaciona con la existencia de procesos de redisolución del manganeso particulado debido a la interacción con el agua de mar, y no a una mayor concentración en las aguas marinas, ya que Elbaz-Poulichet y col. (2001) han determinado concentraciones en las aguas de mar próximas a la desembocadura inferiores a $2,6 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, del mismo orden que las encontradas en esta trabajo para el tramo final del río.

Metales minoritarios

Como ya se ha explicado anteriormente, como metales minoritarios se han englobado aquellos que presentaban concentraciones tan bajas que fue necesaria la realización de un paso previo de preconcentración antes de ser determinados mediante la técnica de espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente.

En general las bajas concentraciones de estos metales y por tanto las pequeñas diferencias que se establecen entre las estaciones de muestreo han hecho más difícil el establecimiento de tendencias espacio-temporales en las aguas del río Guadalquivir para estas variables.

1. Cobalto

Las concentraciones de cobalto medidas en las aguas del río Guadalquivir se muestran en la figura III.23 para cada una de las tomas de muestra efectuadas.

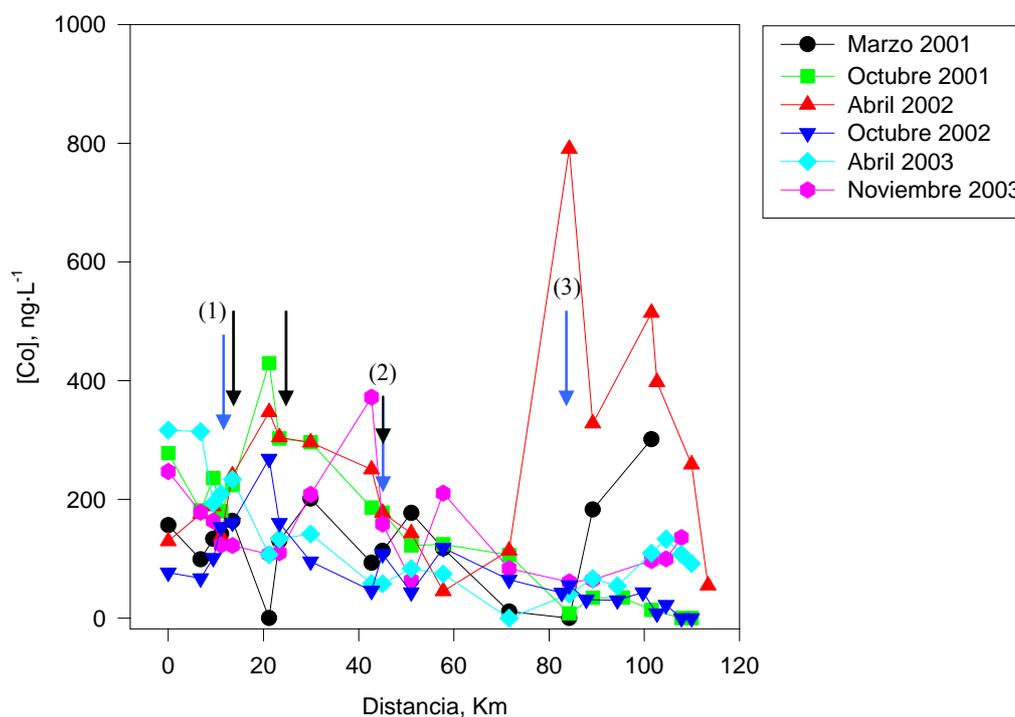


Figura III.23. Concentraciones de cobalto en las aguas del río Guadalquivir. → Afluentes: (1) Rivera de Huelva, (2) Río Guadaira, (3) Brazo de la Torre; → EDAR

Toma 1. Marzo de 2001

Durante esta toma de muestras las concentraciones de cobalto en el río Guadalquivir variaron dentro del intervalo de 14,0-201,3 ng·L⁻¹, con un valor medio de 126,47 ng·L⁻¹. Los valores se mantuvieron relativamente uniformes a lo largo del área urbana y en la mayor parte de la zona agrícola, observando una disminución al final de dicha zona. Después de este descenso que alcanza su mínimo en la desembocadura del Brazo de la Torre se produce un aumento de la concentración de cobalto al ir aumentando la salinidad de las aguas, tendencia que como se verá se repite en otras tomas posteriores.

Toma 2. Octubre 2001

El contenido de cobalto en las aguas del río Guadalquivir se mantuvo dentro del rango de 14,0-429,36 ng·L⁻¹ durante esta toma de muestras, con un valor medio de 162,6 ng·L⁻¹. Como se observa en la figura III.23, las concentraciones de cobalto en la primera estación de muestreo fueron altas, descendiendo rápidamente para volver a aumentar hacia la zona urbana, coincidiendo su máximo valor con los alrededores de Sevilla de forma similar al observado para el amonio, los nitritos y el manganeso (ver figura III.12, figura III.14 y figura III.21), lo que lo relaciona con las actividades urbanas desarrolladas en el río. Marckich y Brown (1998) encuentran también un aumento de este metal en el río Hawkesbury-Nepean (Australia) en puntos de vertido de efluentes de aguas residuales tratadas de concentraciones similares a las encontradas aquí (0,35 µg·L⁻¹). Después de este máximo las concentraciones disminuyen a lo largo de la zona agrícola. A partir de aquí no se observa un comportamiento claro de las concentraciones de cobalto frente al aumento en la salinidad del agua, aunque parece existir cierta tendencia a disminuir su concentración excepto en el kilómetro 95, donde aparece un ligero aumento tal y como ocurría con otros parámetros (sólidos en suspensión, nitratos) y que ha sido relacionado con la existencia del núcleo urbano de Sanlúcar de Barrameda.

Toma 3. Abril de 2002

Durante esta toma de muestras las concentraciones de cobalto se encontraron dentro del intervalo de 55,0-790,6 ng·L⁻¹, con un valor medio de 257,56 ng·L⁻¹. Durante esta toma de muestras se observa un aumento continuo desde la estación de Alcalá del

Río hasta alcanzar el máximo en el área de Sevilla, con un ligero descenso coincidiendo con la desembocadura del Rivera de Huelva. A partir de aquí las concentraciones de cobalto disminuyen a lo largo de toda el área agrícola hasta la desembocadura del Brazo de la Torre, tal y como ocurría en el muestreo anterior. En este punto se observa una concentración anormalmente alta de cobalto en comparación con los otros muestreos realizados y que también se había observado para el caso de los fosfatos, el cobre y el manganeso durante esta misma toma de muestras. Después de este máximo las concentraciones de cobalto siguen un perfil similar al de la toma anterior, con un segundo máximo relativo en el kilómetro 100 a partir del cual las concentraciones disminuyen al aumentar la salinidad.

Toma 4. Octubre de 2002

Las concentraciones de cobalto en esta toma de muestras se mantuvieron en el rango de $14,0-268,5 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de $77,16 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$. Las concentraciones medidas en la cabecera del río son mucho menores que en las tomas anteriores, pero sigue observándose el mismo perfil.

En este caso también se observa en la zona estuárica un descenso de las concentraciones de cobalto a medida que aumenta la salinidad, presentando una ligera desviación de esta tendencia en el kilómetro 100.

Toma 5. Abril de 2003

En esta toma de muestras las concentraciones de cobalto estuvieron siempre dentro del rango de $14,0-316,5 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de $126,37 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$. En este caso, de forma análoga a lo observado para el manganeso, la zona de influencia urbana presenta concentraciones mucho menores que en las tomas de muestra anteriores. Después, como se observa en la figura III.23, el contenido de cobalto en las aguas del río Guadalquivir desciende en toda la zona media del río para finalmente producirse un aumento de la concentración de cobalto coincidiendo con la mezcla de los dos tipos de aguas, tal y como se observaba en la primera toma.

Toma 6. Noviembre de 2003

Las concentraciones de cobalto en esta toma de muestras estuvieron en el rango de $61,1-372,1 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de $144,87 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$. En este caso y al igual que en la toma de muestra anterior se observa un descenso en las concentraciones de cobalto desde Alcalá del Río y a lo largo de toda la zona urbana, del mismo modo que ocurría con el manganeso. Este hecho podría indicar que ambas variables tienen el mismo origen, ya que ambas han experimentado un descenso similar en el área urbana durante el año 2003. Pero a diferencia del muestreo anterior, al final de esta zona se observa un aumento que alcanza su máximo en la estación correspondiente a la Isla de los Olivillos, disminuyendo después las concentraciones de cobalto hasta Sanlúcar de Barrameda, donde comienzan a aumentar al aumentar la salinidad.

Variaciones estacionales y espaciales

Como para el resto de variables estudiadas se compararon los resultados obtenidos para las diferentes tomas de muestra con el objetivo de establecer si existían variaciones de tipo estacional y espacial para las concentraciones de cobalto determinadas en el río Guadalquivir. Para ello se aplicó a los resultados el análisis de la varianza, una vez eliminados los valores extremos (casos 49-53) para cumplir el supuesto previo de homogeneidad de las varianzas. Aunque los resultados indican que existen diferencias espaciales y temporales, éstas últimas sólo se encontraron para el cuarto muestreo como puede observarse de los resultados del test de Tuckey en el anexo 5.

Para comprender mejor las relaciones espaciales de las concentraciones de cobalto en el río Guadalquivir se han representado nuevamente las gráficas de box-whiskers para cada estación de muestreo, tal y como se muestra en la figura III.24.

Los valores de concentración obtenidos guardan concordancia con los medidos por Achterberg y col. (1999) antes del accidente minero de Aznalcóllar en los puntos correspondientes a Coria del Río y Sanlúcar de Barrameda, de $0,56 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ y $0,18 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ respectivamente, y seis meses después del accidente, de $0,45 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ y $0,09 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

El comportamiento de las concentraciones de cobalto en el río Guadalquivir fue muy similar al encontrado para el manganeso, tal y como puede observarse en la figura III.24, aunque a diferencia que en el caso del manganeso, el cobalto presenta en la

estación de Alcalá del Río valores más elevados que en las estaciones contiguas, tal y como ocurría con los nitratos. A excepción de este punto se produce un aumento de la concentración a lo largo de toda el área urbana, donde alcanza el máximo coincidiendo con los correspondientes a amonio, nitritos y manganeso. Este comportamiento, con los valores máximos relacionados con la existencia de núcleos urbanos, parece indicar que ésta es la fuente predominante de cobalto en las aguas del río Guadalquivir, tal y como ocurría para el manganeso.

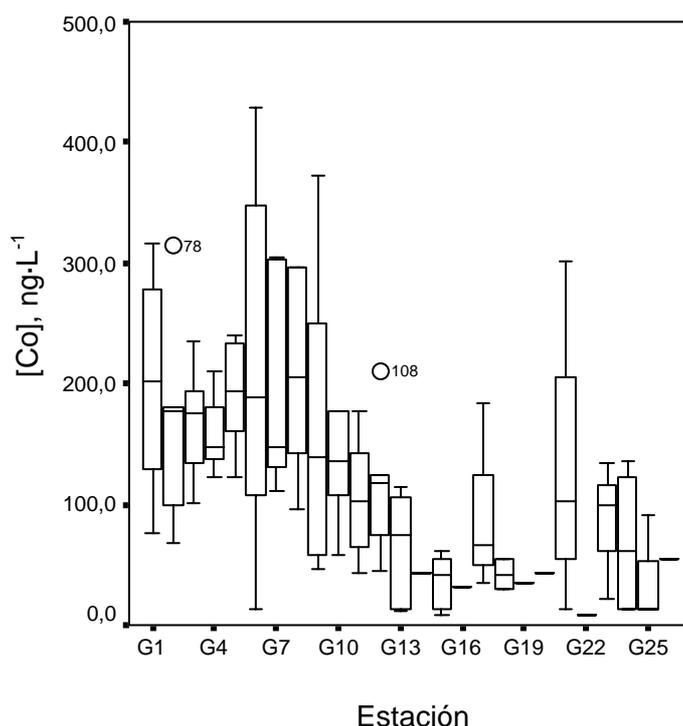


Figura III.24. Gráficos box-plot para cobalto.

A lo largo de toda la zona agrícola del río las concentraciones disminuyen, hasta Sanlúcar de Barrameda, donde existe un máximo a partir del cual desciende el contenido en cobalto a medida que aumenta la salinidad, aunque este comportamiento no fue claro para todas las tomas de muestra.

2. Níquel

Las concentraciones de níquel determinadas en las aguas del río Guadalquivir se muestran en la figura III.25 para cada estación de muestreo y para cada toma de muestra realizada.

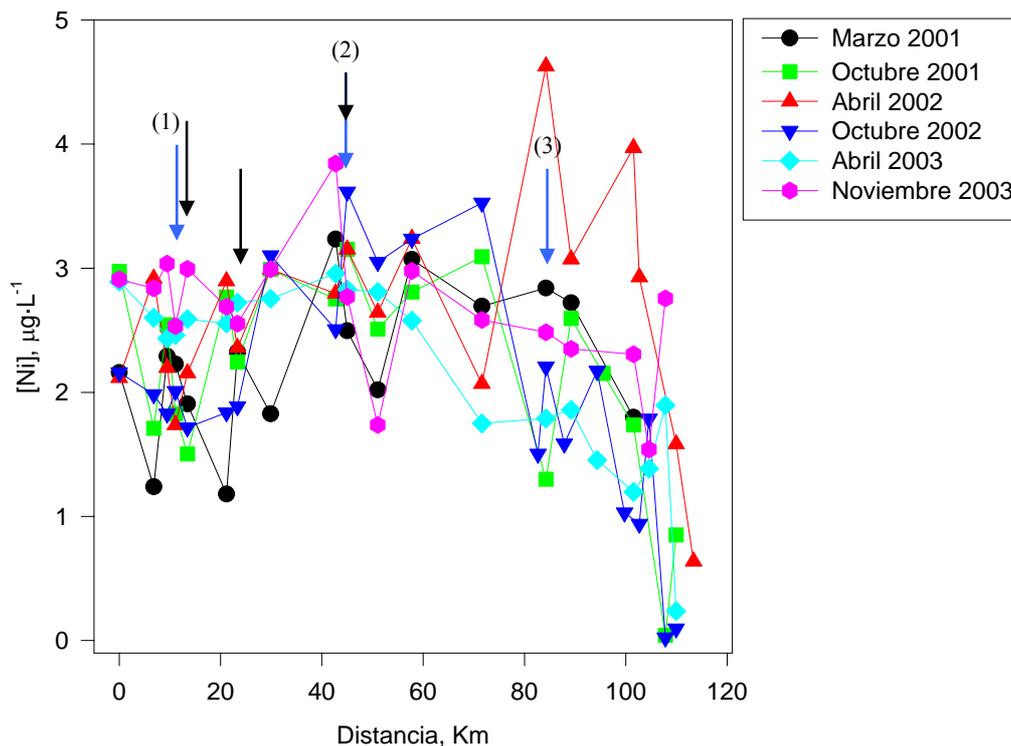


Figura III.25. Concentración de níquel en las aguas del río Guadalquivir. → Afluentes: (1) Rivera de Huelva, (2) Río Guadaira, (3) Brazo de la Torre; → EDAR

Toma 1. Marzo de 2001

Las concentraciones de níquel durante esta toma de muestras se mantuvieron dentro del intervalo de $1,2-3,2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de $2,25 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. En este caso las concentraciones de níquel presentaron un perfil bastante irregular, aunque en general se observa un aumento en la zona central del río, donde predominan las actividades agrícolas. Después, ya en la zona estuárica, se observa un descenso de los valores al aumentar la salinidad.

Toma 2. Octubre 2001

Durante esta toma de muestras las concentraciones de níquel en las aguas del río Guadalquivir se mantuvieron dentro del rango de 0,1-3,1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con una concentración media de 2,09 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Como se observa en la figura III.25, las concentraciones de níquel en el Guadalquivir presentan un comportamiento similar al del muestreo anterior, con un perfil en forma de U invertida como el que presentaban los fosfatos. Además, la estación correspondiente a Alcalá del Río presenta valores algo superiores a las estaciones contiguas de forma similar a lo que se vio para los nitratos y cobalto.

En la parte estuárica vuelve a observarse un descenso paulatino a medida que aumenta la salinidad, indicando una dilución debida al menor contenido en níquel del agua de mar. En efecto, Elbaz-Poulichet y col. (2001) determinaron cantidades de níquel de 0,117-0,146 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ en la zona del Golfo de Cádiz próxima a la desembocadura del Guadalquivir, valores muy inferiores a los que el río presentó a lo largo de todo su curso.

Toma 3. Abril de 2002

En esta toma de muestra las concentraciones de níquel estuvieron dentro del rango de 0,6-4,6 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de 2,64 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. En general el comportamiento de este parámetro es similar al observado durante los muestreos anteriores, con un pequeño descenso en la primera parte del área urbana coincidiendo con la desembocadura del Rivera de Huelva, para aumentar después manteniéndose constante a lo largo de toda la zona agrícola. Hay que destacar que, al igual que ocurre con otros parámetros, en la desembocadura del Brazo de la Torre se observa un valor anormalmente alto durante este muestreo. Del mismo modo parece existir otro valor máximo en la estación correspondiente a Sanlúcar de Barrameda, después del cual las concentraciones descienden debido a la dilución con el agua de mar.

Toma 4. Octubre de 2002

Las concentraciones de níquel en esta toma de muestras se encontraron dentro del rango de 0,02-3,6 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de 1,99 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Durante esta toma de muestras se observa claramente cómo las concentraciones más bajas aparecen al

principio del área urbana, aumentando ya al final de la zona y manteniendo esos niveles en toda el área agrícola. Después vuelve a comprobarse cómo disminuyen las concentraciones de níquel en la zona estuárica debido a la dilución ocasionada por la entrada de agua de mar.

Toma 5. Abril de 2003

En este caso las concentraciones de níquel variaron dentro del intervalo 0,2-2,9 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de 2,09 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. El perfil es ligeramente distinto al del resto de tomas de muestras, con concentraciones de níquel algo más altas en el área urbana. Aunque en las anteriores tomas de muestra parecía que las concentraciones de níquel se encontraban más influenciadas por las actividades agrícolas, son varias las referencias que asocian este elemento con aguas residuales (Marckich y Brown, 1998; Dassenakis y col., 1998), por lo que su origen en el Guadalquivir podría estar relacionado con ambas fuentes. En la zona estuárica de nuevo se produce un descenso en las concentraciones al aumentar la salinidad.

Toma 6. Noviembre de 2003

Las concentraciones de níquel en esta toma de muestras se mantuvieron dentro del intervalo de 1,54-3,84 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de 2,66 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. En la figura III.25 se observa como el perfil que presentan las concentraciones de níquel fue similar al del muestreo anterior, con concentraciones semejantes en las áreas urbana y agrícola. Por otro lado, en la zona estuárica, el descenso debido a la dilución con el agua de mar se produce más lentamente que en tomas anteriores.

Variaciones estacionales y espaciales

Del mismo modo que para las otras variables estudiadas, para establecer las variaciones espaciales y temporales de las concentraciones de níquel en las aguas del río Guadalquivir, se aplicó el análisis de la varianza a los resultados obtenidos. Este análisis demuestra que no existen diferencias significativas entre los distintos muestreos realizados para un nivel de significación del 0,05, por lo que se descarta la influencia estacional para esta variable, aunque como cabía esperar sí encontró diferencias espaciales.

En la figura III.26 se presentan gráficos de cajas y bigotes para cada estación de muestreo, de modo que se observan con claridad las variaciones espaciales existentes para las concentraciones de níquel en el tramo del río Guadalquivir estudiado. El comportamiento espacial que se observa en la gráfica, así como las concentraciones de níquel en el río Guadalquivir determinadas en este trabajo, son similares a las que obtuvo la Junta de Andalucía en su Plan de Policía de Aguas (Consejería de Medio Ambiente, 2001) y del mismo orden que las encontradas por Achterberg y col. (1999) en Coria del Río y Sanlúcar de Barrameda antes del accidente de Aznalcóllar.

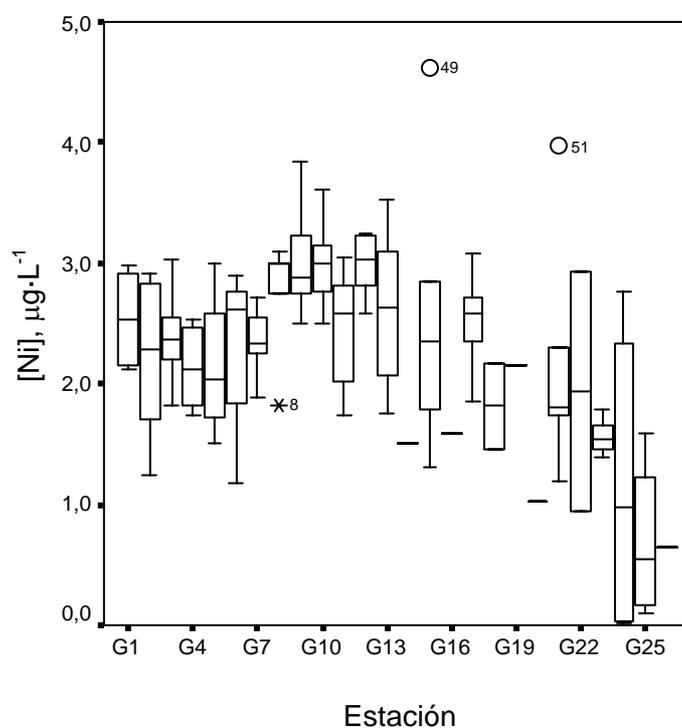


Figura III.26. Gráficas boxplot para níquel.

Como se observa en la gráfica este elemento presenta un aumento entre las estaciones G-6 y G-13, coincidiendo con áreas de fuerte influencia urbana y agrícola, lo que avala la hipótesis de que este elemento se encuentra controlado por ambas fuentes en el río Guadalquivir, de modo similar a lo que ocurre con los nitratos. De hecho este elemento se encuentra principalmente en la fase disuelta en los efluentes de las plantas de tratamiento (Karvelas y col., 2003), aunque Markich y Brown (1998) encuentran contenidos de níquel en puntos de vertido de aguas residuales de $0,3 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, muy

inferiores a los medidos en el Guadalquivir. Por otro lado, Dassenakis y col. (1997) determinan concentraciones de níquel en el río Acheloos (Grecia) de $1,46 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, más próximas a las del río Guadalquivir, siendo una zona predominantemente agrícola (cultivos de algodón) y carente de fuentes puntuales urbanas. Del mismo modo Cenci (2004) determina concentraciones medias de $7,8\text{-}8,4 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de níquel en el delta del río Mekong (Vietnam), zona predominantemente agrícola.

Además, se aprecia también cómo en la primera estación de muestreo, la correspondiente a Alcalá del Río, la concentración es superior a la medida en las estaciones siguientes, igual que ocurría en el caso de los nitratos, del cobre y del cobalto. Ya se ha señalado anteriormente que esta estación presenta características mixtas entre zona urbana y agrícola, ya que a pesar de que la población se localiza cerca del río, una gran extensión del municipio se destina a actividades agrícolas.

Por otro lado, en la zona de la desembocadura se ve claramente que a medida que aumenta la salinidad la concentración de este metal disminuye progresivamente, debido a una dilución ocasionada por el agua de mar de menor contenido en níquel, tal y como se ha comentado anteriormente.

3. Plomo

Las concentraciones de plomo medidas en las aguas del río Guadalquivir durante el desarrollo del presente trabajo se representan en la figura III.27 para cada una de las tomas de muestras efectuadas y para cada estación de muestreo.

Toma 1. Marzo 2001

Durante esta toma de muestras las concentraciones de plomo se mantuvieron en el intervalo $21,3\text{-}340,0 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de $72,29 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$, si bien todas las muestras a excepción de la última estación estuvieron por debajo de $83 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$. Como se observa en la figura III.27, las concentraciones de plomo en el primer tramo de estudio disminuyen desde la primera estación hasta el kilómetro 20, a excepción del máximo relativo que aparece en la estación G-3 y que también aparece para el níquel en esta toma de muestras (ver figura III.25). Este descenso da paso a un aumento puntual en la estación G-7, coincidiendo con la existencia del vertido de las aguas residuales tratadas de la depuradora de Tablada, así como con el puerto de Gelves. Y a partir de la estación

contigua, que ya presenta valores inferiores, las concentraciones permanecen estables en el resto del río, tendencia que se ve rota sólo por el último punto de muestreo, que presenta el valor máximo muy alejado de la media.

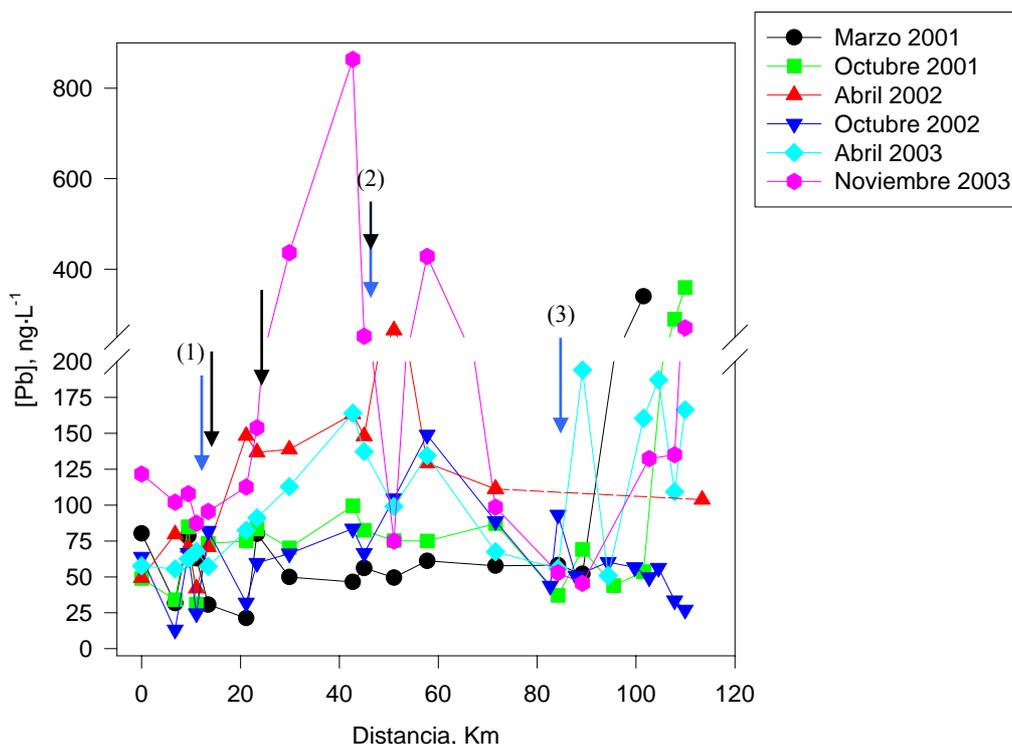


Figura III.27. Concentración de plomo en las aguas del río Guadalquivir. (-----) valores omitidos; → Afluentes: (1) Rivera de Huelva, (2) Río Guadaira, (3) Brazo de la Torre; → EDAR

Toma 2. Octubre 2001

Las concentraciones de plomo durante esta toma de muestras se mantuvieron dentro del rango de 37,0-359,3 ng·L⁻¹, con un valor medio de 93,26 ng·L⁻¹. Como se observa en la figura, el perfil obtenido en esta toma fue similar al del muestreo anterior. En este caso la estabilidad en las concentraciones de plomo observada anteriormente para el área agrícola comienza ya la zona urbana, situación que es consistente con la existencia de un desplazamiento de los perfiles durante el primer muestreo que ya se ha descrito anteriormente para otras variables (conductividad, sólidos en suspensión, compuestos nitrogenados, fosfatos, manganeso). Esta estabilidad se ve rota con la

aparición de un mínimo en la desembocadura del Brazo de la Torre, después del cual las concentraciones muestran una tendencia a aumentar con la salinidad, alcanzando de nuevo valores muy por encima de la media en los puntos más exteriores. Este hecho podría indicar que existe algún aporte externo en la zona, o bien la procedencia de una mayor concentración de plomo en las aguas de origen marino que en las del río.

Toma 3. Abril de 2002

Durante esta toma de muestras las concentraciones de plomo en las aguas del río Guadalquivir se encontraron dentro del rango de 41,90-2267,72 ng·L⁻¹, con un valor medio de 385,94 ng·L⁻¹. Los resultados obtenidos en esta toma se han representado sólo de forma parcial en la figura III.27, ya que se han omitido algunos de la última zona debido a que su elevado valor no permitía visualizar los perfiles con claridad. Por esta razón las concentraciones de plomo para este muestreo se han representado independientemente de las otras en la figura III.28.

En este caso, en el primer tramo del río se observa un aumento de la concentración con un mínimo puntual en la desembocadura del Rivera de Huelva, aumento que se frena al llegar al área de Sevilla. A partir de aquí las concentraciones presentan pocas variaciones a lo largo de la zona intermedia del río, como había ocurrido en los muestreos anteriores.

En este caso hay que destacar que el aumento observado en la desembocadura es mucho más pronunciado que en las tomas anteriores y se produce ya en la zona de salinidad más baja, coincidiendo el máximo en la desembocadura del Brazo de la Torre. Estos valores anormalmente altos coinciden con los aumentos observados en las concentraciones otros parámetros como fosfatos, cobre, manganeso, cobalto y níquel para esta misma toma de muestras, pudiendo observar cómo la incidencia es mucho más acentuada en el caso del plomo. Si no tenemos en cuenta esta zona de altas concentraciones el contenido medio de las aguas del río sería de 119,46 ng·L⁻¹.

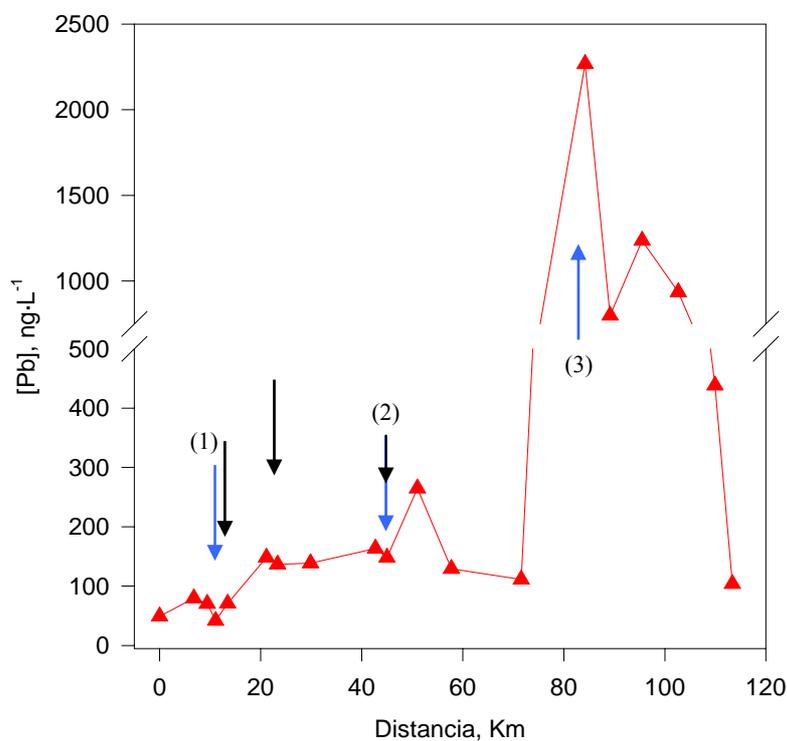


Figura III.28. Concentraciones de plomo en las aguas del río Guadalquivir durante abril de 2002. → Afluentes: (1) Rivera de Huelva, (2) Río Guadaira, (3) Brazo de la Torre; → EDAR

Toma 4. Octubre de 2002

En esta toma de muestras las concentraciones de plomo medidas en las aguas del río Guadalquivir se mantuvieron dentro del rango de 13,1-198,5 ng·L⁻¹, con un valor medio de 62,35 ng·L⁻¹. En este caso las concentraciones de plomo en el primer tramo de estudio presentaron un perfil en zig-zag hasta el kilómetro 20, a partir del cual comienza un ascenso paulatino que alcanza su máximo en la zona agrícola coincidiendo con la desembocadura del Brazo del Este. A partir de aquí las concentraciones disminuyen paulatinamente a medida que aumenta la salinidad, sin que exista el aumento observado en las tomas de muestra anteriores, lo que descartaría una mayor concentración en las aguas marinas que en las fluviales.

Toma 5. Abril de 2003

Las concentraciones de plomo medidas en este muestreo estuvieron en el rango de 50,8-187,3 ng·L⁻¹, con un valor medio de 105,69 ng·L⁻¹. En este caso cabe destacar que a lo largo de toda la zona urbana se produce un aumento progresivo de concentración que alcanza su máximo justo antes de la desembocadura del río Guadaira. A partir de aquí las concentraciones disminuyen hasta la desembocadura del Brazo de la Torre, con un pequeño repunte en la desembocadura del Brazo del Este muy similar al observado en la toma anterior. En la zona de salinidad se observa una tendencia general a aumentar la concentración de plomo hacia el mar, aunque las concentraciones no alcanzan valores tan elevados como en las primeras tomas de muestra, lo cual parece indicar otra vez que este aumento observado en la concentración de plomo en esta zona no se debe a un mayor contenido en las aguas marinas, sino a alguna fuente existente no identificada.

Toma 6. Noviembre de 2003

Durante esta toma de muestras las concentraciones de plomo se mantuvieron en el intervalo de 45,5-843,6 ng·L⁻¹, con un valor medio de 198,42 ng·L⁻¹. En esta toma se obtuvieron algunas muestras con concentraciones más altas que en las anteriores a lo largo de todo el río, a excepción de las anomalías encontradas durante abril de 2002. Aún así, se sigue observando escasa variación en las concentraciones medidas en el primer tramo del río, aumentando bruscamente en la zona final del área urbana. Los máximos se registran en dos puntos del área agrícola, el primero de ellos justo antes de la desembocadura del Brazo de los Jerónimos, y el segundo en la desembocadura del Brazo del Este, coincidiendo con los repuntes observados para otras tomas de muestra. En la zona de la desembocadura vuelve a aparecer un aumento en la zona de alta salinidad, con valores similares a los encontrados durante los muestreos del primer año.

Variaciones estacionales y espaciales

En el caso del plomo fue necesario aplicar la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para establecer las dependencias espacio-temporales debido a que los datos no siguen una distribución normal y ninguna de las transformaciones que se probaron consiguió que la siguieran. Los resultados de este test, que se muestran en el anexo 5,

indicaron que existen diferencias significativas debidas a ambos factores. A pesar de esto, observando la figura III.27, no puede establecerse sin lugar a dudas la existencia de una dependencia estacional que explique éstas diferencias, ya que por ejemplo, los tres muestreos que presentaron concentraciones más bajas y un perfil muy similar no correspondían a la misma estación anual.

Para explicar las variaciones espaciales se ha optado, de igual modo que para el resto de variables estudiadas, por representar los datos obtenidos para cada una de las estaciones de muestreo en forma de cajas de box-whiskers. Estas gráficas, que se presentan en la figura III.29, han sido realizadas excluyendo el muestreo de abril de 2003 de los cálculos realizados, así como algunos de los valores más extremos correspondientes a la última toma de muestras (casos 104, 105, 106 y 108 en las tablas del anexo 2) y que no permitían presentar el perfil con claridad.

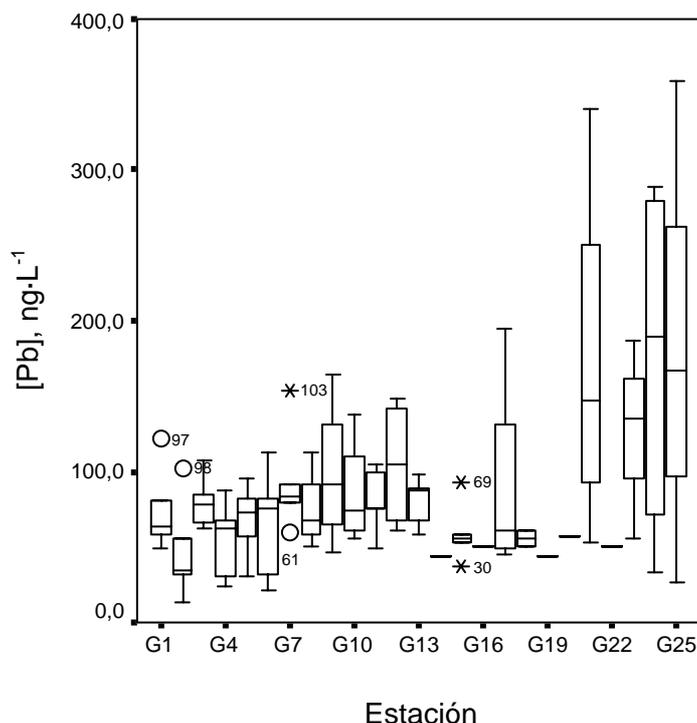


Figura III.29. Gráficos box-plot para plomo.

Como se observa en la figura, las concentraciones de plomo en las aguas del río Guadalquivir no presentan muchas variaciones a lo largo de toda el área urbana, aumentando suavemente en las últimas estaciones de la zona y apareciendo un máximo relativo en la zona intermedia del río coincidiendo con grandes extensiones agrícolas. El

plomo es uno de los metales que menor contenido presenta en fase disuelta en los efluentes de aguas residuales tratadas (Karvelas y col., 2003), por lo que no es de esperar un fuerte aumento debido a esta fuente. En este sentido, Alonso (1998) determinó concentraciones de plomo en el rango de 13-30 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ en los efluentes de las cuatro depuradoras de la ciudad de Sevilla, valores muy inferiores a los determinados para otros metales como manganeso o zinc. Marckich y Brown (1998) asocian valores de 0,15-0,30 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de plomo a la influencia de los efluentes de las estaciones de tratamiento de aguas residuales, valores superiores a los encontrados en el área urbana del río Guadalquivir.

En la zona de la desembocadura las concentraciones fueron elevadas en la mayoría de las ocasiones, y mostraron una tendencia a aumentar con la salinidad. No obstante, y a pesar de que no se han encontrado dependencias estacionales, llama la atención que los muestreos que se apartan de este comportamiento en la desembocadura son los realizados durante el mes de octubre y cuando se registraron las mínimas precipitaciones, por lo que esto reforzaría la teoría de la existencia de una fuente puntual en esta zona que se pondría de manifiesto en la época de lluvias, pudiendo relacionarse con escorrentías urbanas y/o agrícolas.

4. Zinc

Las concentraciones de zinc determinadas en las aguas del río Guadalquivir han sido representadas en la figura III.30 para cada una de las estaciones de muestreo y cada toma de muestras realizada.

Toma 1. Marzo de 2001

Durante esta toma de muestras las concentraciones de zinc se mantuvieron en el intervalo de 0,01-2,8 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de 0,71 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. En la primera estación de muestreo se observa una concentración más alta que en las estaciones contiguas, de forma similar a lo observado para los nitratos, el cobalto y níquel. A partir de este punto se observa una tendencia a disminuir la concentración hasta el kilómetro 20, donde existe un pequeño aumento coincidiendo con la entrada de efluentes procedentes de la estación depuradora de Tablada. En la zona más agrícola las concentraciones se mantienen bajas a excepción de dos puntos, el primero de ellos coincidiendo con la

desembocadura del río Guadaira, donde vierten dos de las depuradoras de Sevilla, y el segundo en la del Brazo del Este coincidiendo con aportes de tipo agrícola.

En el área de la desembocadura se observa un aumento de las concentraciones a medida que aumenta la salinidad de las aguas, debido a las mayores concentraciones existentes en el agua marina, ya que Elbaz-Poulichet y col. (2001) han determinado concentraciones de $1,56-3,14 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ en las áreas del Atlántico cercanas a la desembocadura del Guadalquivir.

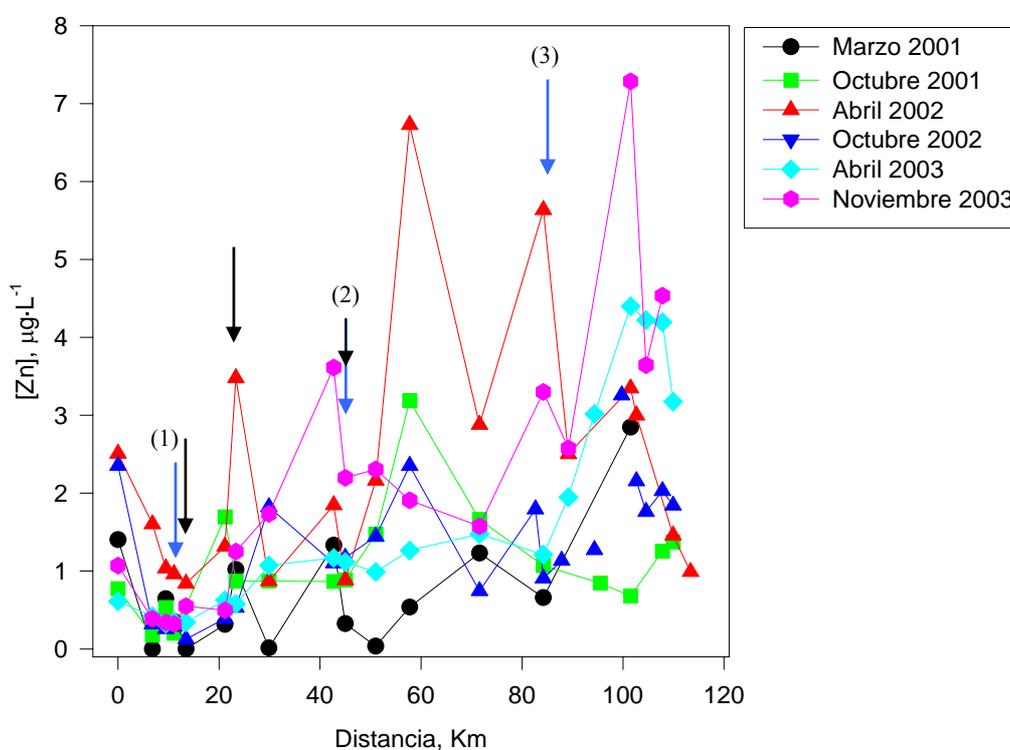


Figura III.30. Concentración de zinc en las aguas del río Guadalquivir. → Afluentes: (1) Rivera de Huelva, (2) Río Guadaira, (3) Brazo de la Torre; → EDAR

Toma 2. Octubre de 2001

Las concentraciones de zinc determinadas en las aguas del río Guadalquivir durante esta toma de muestras se encontraron en el rango de $0,2-3,2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de $1,20 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. De nuevo se observa una concentración ligeramente superior en

la estación inicial (Alcalá del Río) en relación a otras estaciones del área urbana, pudiendo exceptuar el máximo localizado en la estación de San Juan de Aznalfarache, donde existe una importante industria arrocera y que se encuentra entre la influencia de los efluentes de varias de las estaciones depuradoras de aguas residuales con las que cuenta Sevilla. El zinc es uno de los elementos que se encuentra presente en mayores concentraciones en los efluentes de las estaciones de tratamiento de aguas residuales. Alonso (1998) ha determinado concentraciones de hasta $235 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ en los efluentes de las depuradoras de la ciudad de Sevilla, y Marckich y Brown (1998) también relacionan picos de $1,6\text{-}2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de zinc en el río Hawkesbury-Nepean (Australia) con la entrada de aguas residuales tratadas.

También existe alguna concentración más elevada en el área agrícola y en la desembocadura del Brazo de la Torre, consecuencia de un aporte externo procedente de este brazo y que se repetirá en la mayoría de los muestreos. Posteriormente las concentraciones disminuyen por dilución, para finalmente aumentar por la entrada de agua de mar al igual que en la toma anterior.

Toma 3. Abril de 2002

En esta toma de muestras las concentraciones de zinc en las aguas del río Guadalquivir estuvieron en el rango de $0,8\text{-}6,7 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de $2,32 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. En este caso el perfil fue prácticamente idéntico al anterior, aunque con mayores concentraciones en la práctica totalidad de las estaciones. Nuevamente se identifican aportes en las estaciones de Alcalá del Río (Km 0), Gelves (Km 20), Brazo del Este (Km 60), Brazo de la Torre (Km 80) y Sanlúcar de Barrameda (Km 100).

Toma 4. Octubre de 2002

Las concentraciones de zinc medidas durante esta toma de muestras se mantuvieron en el rango de $0,1\text{-}3,3 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de $1,32 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. De nuevo se observa idéntico perfil, ya que, aunque con menores concentraciones que en el muestreo anterior, los picos aparecen prácticamente en las mismas estaciones de muestreo.

Toma 5. Abril de 2003

Durante esta toma de muestras las concentraciones de zinc estuvieron dentro del rango de 0,3-4,4 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de 1,62 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. En este caso prácticamente desaparecen los picos de zinc existentes en el río, viéndose tan solo un aumento paulatino a partir de la llegada a Sevilla, el cuál se acentúa con la entrada de agua de mar. Esto parece indicar la existencia de una fuente durante periodos anteriores que ha dejado de aportar zinc al río antes de octubre de 2002. Si el origen de este elemento se encuentra relacionado con los efluentes de aguas residuales tratadas hay que tener en cuenta que el contenido de dichos efluentes dependerá del contenido metálico del agua entrante, y Chipasa y col. (2003) afirma que el zinc, junto con el cobre, es uno de los metales que más variabilidad presenta en sus concentraciones en los efluentes de una estación depuradora de aguas residuales.

También hay que señalar que los valores observados en la cabecera no fueron tan elevados como los encontrados en las dos tomas anteriores. Por otro lado, las concentraciones en el área agrícola fueron algo superiores a las medidas en el área urbana, pero sin presentar los máximos observados en las tomas anteriores.

Toma 6. Noviembre de 2003

Las concentraciones de zinc en esta toma de muestras se encontraron en el rango de 0,3-7,3 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de 2,17 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Como se puede ver en la figura III.30 las concentraciones en el área urbana fueron muy similares a las medidas en las tomas de muestras anteriores, con un pequeño máximo en Alcalá del Río. Pero en este caso, ya al final del área urbana y a lo largo de toda la zona agrícola las concentraciones son mayores, apareciendo nuevamente el perfil en dientes de sierra que ya se había observado.

Variaciones estacionales y espaciales

Para establecer si las concentraciones de zinc en las aguas del río Guadalquivir presentaban diferencias espaciales y temporales se realizó un análisis de la varianza de dos factores, cuyo procedimiento se detalla en el anexo 4. Dicho test concluyó que sí existían diferencias significativas relacionadas con ambos factores, pero cuando se aplicó el test de Tuckey las diferencias temporales se limitaban sólo a las tomas 1 y 3, lo

cual era de esperar puesto que corresponden a las tomas con las mínimas y máximas concentraciones respectivamente. Al coincidir ambas tomas con épocas de alto caudal puede descartarse sin lugar a dudas la dependencia estacional de las concentraciones de zinc en el río Guadalquivir.

Para explicar las variaciones espaciales, como se ha hecho con las otras variables, en la figura III.31 se han representado las gráficas de cajas y bigotes para cada una de las estaciones de muestreo teniendo en cuenta todas las tomas de muestra realizadas. Hay que señalar que para construir dicha gráfica se han eliminado algunos valores excesivamente altos (casos 47 y 112, en el anexo 2) para evitar distorsiones.

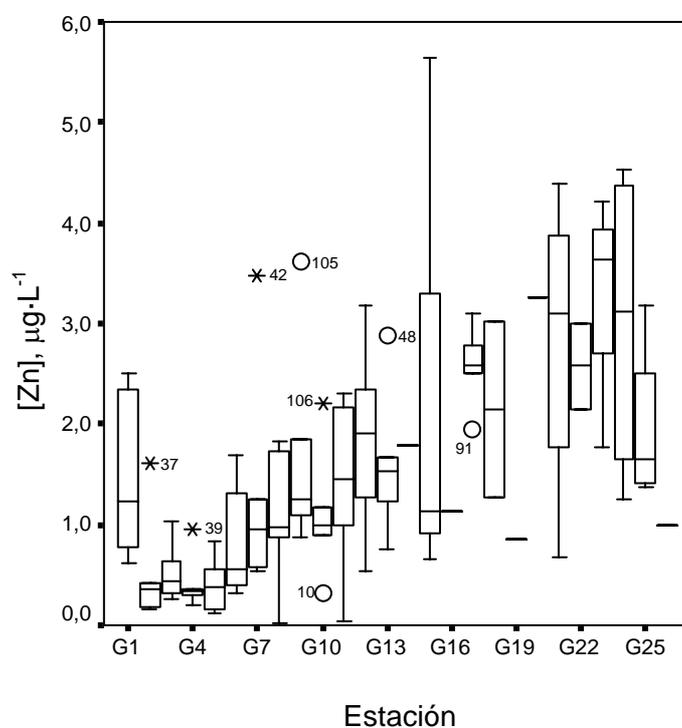


Figura III.31. Gráfica box-plot para zinc.

Como se observa en la figura, las concentraciones de zinc presentan un aumento progresivo a lo largo de todo el río Guadalquivir, exceptuando la primera estación de muestreo, correspondiente a Alcalá del Río, donde se localizan valores mucho más altos que en las estaciones contiguas, tal y como se ha observado para otros parámetros. Este comportamiento de crecimiento progresivo cambia sólo al alcanzar el área de la desembocadura, pero ya en la zona de máximas salinidades donde se puede apreciar un suave descenso que puede ser debido a la mezcla con el agua de mar. Aunque esta

disminución sólo se observa para los muestreos en los que la concentración de zinc es más alta de la que existe en las aguas marinas, y es de hecho tan alta como para que dicha dilución sólo se aprecie en los últimos kilómetros del curso del río.

5. Cadmio

En la figura III.32 se han representado las concentraciones de cadmio determinadas en las aguas del río Guadalquivir para cada una de las tomas de muestras y en cada estación de muestreo.

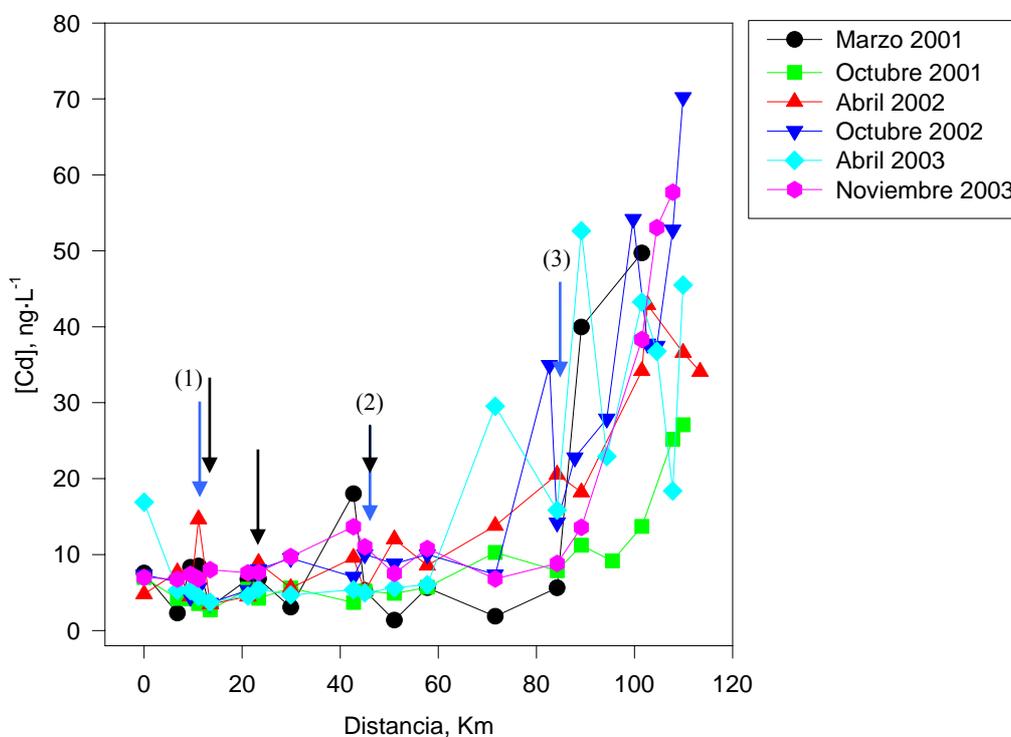


Figura III.32. Concentración de cadmio en las aguas del río Guadalquivir. . → Afluentes: (1) Rivera de Huelva, (2) Río Guadaira, (3) Brazo de la Torre; → EDAR

Toma 1. Marzo de 2001

Para esta toma de muestra las concentraciones de cadmio medidas en las aguas del río Guadalquivir se encontraron en el rango de 1,36-49,72 ng·L⁻¹, con un valor medio de 10,86 ng·L⁻¹. En general las concentraciones a lo largo de todo el río fueron bajas y constantes, con la única excepción de la estación G-9 correspondiente a un área

de cultivos de arroz. Al alcanzar el área de la desembocadura se observa claramente cómo la concentración de cadmio aumenta con la salinidad de las aguas, comportamiento que se repite para todos los muestreos. En este caso no se trata de un aumento debido a la alta concentración del agua de mar, ya que ésta presenta concentraciones de $22,48 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ (Elbaz-Poulichet y col., 2001), sino del perfil de variación habitual que presenta el cadmio en un estuario. Este perfil se debe a la desorción que sufre este elemento debido a la formación de complejos con el cloro o por la competición de elementos presentes en el agua de mar por los lugares de adsorción (Cenci, 2004; Zwolsman y col., 1997; Yang y Sañudo-Wilhelmy, 1998).

Toma 2. Octubre de 2001

Las concentraciones de cadmio determinadas durante esta toma de muestra se encontraron en el rango de $2,7\text{-}27,1 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de $8,46 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$. El perfil de concentraciones es similar al observado en la toma anterior, con concentraciones constantes a lo largo de todo el río hasta la desembocadura, donde se produce un aumento al aumentar la salinidad. La única diferencia es la desaparición del pico correspondiente a la estación G-9.

Toma 3. Abril de 2002

Para esta toma de muestra se encontraron valores de cadmio dentro del rango de $3,5\text{-}42,9 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de $15,25 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$. De nuevo se repite el mismo perfil que en las tomas anteriores, aunque en este caso el aumento observado en la zona de la desembocadura comienza algo antes.

Toma 4. Octubre de 2002

Las concentraciones de cadmio durante esta toma de muestras estuvieron dentro del rango de $3,6\text{-}70,2 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$, con un valor medio de $20,27 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$. En este caso las concentraciones de cadmio volvieron a presentar un perfil similar al de ocasiones anteriores, aunque en algunos puntos de la desembocadura aparecen dientes de sierra. A parte de esto se observa de nuevo el aumento en la concentración a medida que aumenta la salinidad de las aguas.

Toma 5. Abril de 2003

Durante esta toma de muestras las concentraciones de cadmio en las aguas del río Guadalquivir estuvieron siempre dentro del rango de 3,7-52,6 ng·L⁻¹, con un valor medio de 16,86 ng·L⁻¹. En este caso se observa un máximo en la concentración medida en la estación de Alcalá del Río, descendiendo rápidamente hasta presentar el perfil habitual con concentraciones constantes en toda la zona fluvial. Igualmente cabe señalar que ya al final del área agrícola aparecen nuevamente los dientes de sierra, esta vez ligeramente desplazados coincidiendo con la desembocadura del Brazo del Este y Sanlúcar de Barrameda. Aparte de estas excepciones vuelve a encontrarse un aumento progresivo a medida que aumenta la salinidad de las aguas.

Toma 6. Noviembre de 2003

Las concentraciones de cadmio para esta toma de muestras se mantuvieron en el rango de 6,8-57,7 ng·L⁻¹, con un valor medio de 15,68 ng·L⁻¹. En este caso el perfil obtenido para las concentraciones de cadmio en el río Guadalquivir fue similar al observado en las primeras tomas de muestras con un pico en la estación G-9 y desapareciendo los aportes externos detectados en la zona estuárica. De nuevo los valores se mantuvieron constantes a lo largo de todo el río hasta la desembocadura, donde se produjo un aumento progresivo a medida que aumentaba la salinidad.

Variaciones estacionales y espaciales

De nuevo, para establecer las posibles dependencias espaciales y temporales de las concentraciones de cadmio en el río Guadalquivir se realizó un análisis de la varianza de dos factores a los resultados obtenidos. Este análisis concluyó que no existían diferencias significativas entre las tomas de muestra realizadas, aunque sí entre las diferentes zonas muestreadas. Así que al igual que ocurre con las otras variables determinadas en el río Guadalquivir el cadmio no presentó una dependencia estacional.

Desde el punto de vista espacial se puede observar el comportamiento de esta variable en la figura III.33, en la que se presentan las gráficas de box-whisker para cada estación de muestreo teniendo en cuenta los resultados de todas las tomas de muestra realizadas.

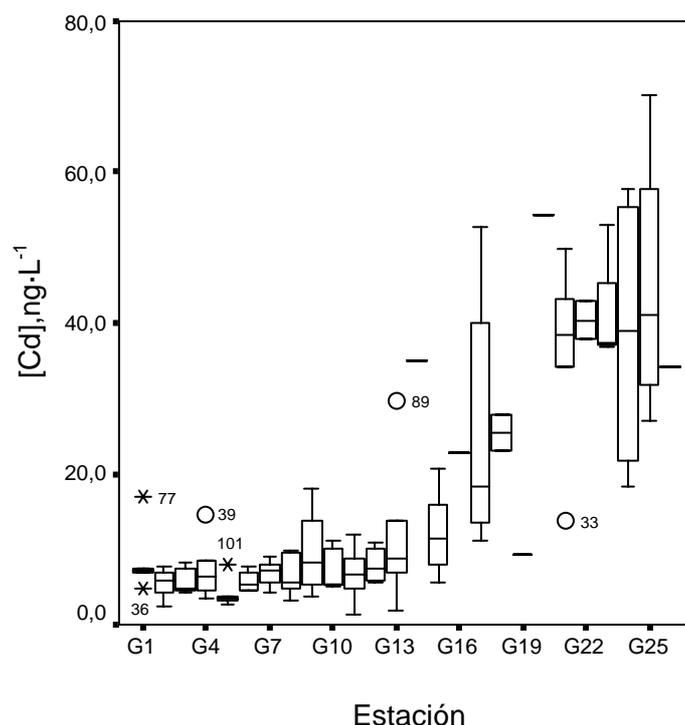


Figura III.33. Gráfica box-plot para cadmio.

Como se observa en la figura, las concentraciones en la zona fluvial del río fueron prácticamente constantes, independientemente de las actividades antropogénicas existentes en las márgenes, aunque para otros sistemas se ha encontrado un aumento de cadmio en zonas agrícolas (Monbet, 2004) y urbanas (Yang y Sañudo-Wilhelmy, 1998; Markich y Brown, 1998) y que podrían ser responsables de alguno de los aumentos puntuales observados en alguna de las tomas.

Sin embargo en la desembocadura se observa claramente un aumento paulatino de la concentración a medida que aumenta la salinidad, obteniendo un perfil para este metal casi idéntico al que se observa para la conductividad de las aguas. Este hecho parece indicar que la concentración de este metal en las aguas del río Guadalquivir se encuentra controlada principalmente por la mezcla de los dos tipos de agua.

En resumen, las variables determinadas en las aguas del río Guadalquivir no presentaron ninguna variabilidad de tipo estacional, presentando un comportamiento similar para todas las tomas de muestra realizadas. Este hecho ha permitido establecer comportamientos espaciales medios para cada una de ellas, pudiendo agruparlas según éste comportamiento. Así, existen algunas variables que presentaron un perfil espacial en forma de U, con las mínimas concentraciones en el área urbana, como es el caso del cobre, el pH y el oxígeno disuelto, aunque para el cobre se aprecia una disminución en su concentración a lo largo de la zona estuárica. Otras, como los sólidos disueltos y el fosfato mostraron en general un perfil en forma de U invertida, coincidiendo los máximos con la zona más agrícola del río. En este grupo se podría incluir también el níquel, aunque su perfil se encuentra algo distorsionado por la existencia de concentraciones algo elevadas en el área urbana, de forma similar a lo que ocurre con los nitratos que se encuentran en altas concentraciones a lo largo de toda el área de estudio y no permite establecer una zona de máximos con claridad. Un gran número de variables presentaron sus máximas concentraciones en la zona urbana, como fue el caso de nitritos, amonio, manganeso y cobalto, y otras como el plomo y el cadmio presentaron comportamientos únicos. En el caso del plomo por presentar un perfil bastante irregular a lo largo de la zona de estudio y en el caso del cadmio porque se correspondió únicamente con el perfil presentado por la conductividad.

Aunque el estudio de los perfiles ha permitido vislumbrar algunos comportamientos generales para las variables determinadas en el río Guadalquivir, así como cierta relación de dichos comportamientos con las actividades desarrolladas en las márgenes del río, es necesario realizar un estudio más exhaustivo que contemple todos los datos de forma conjunta. Para ellos se han utilizado diferentes herramientas estadísticas, que se desarrollan en el apartado siguiente, que han permitido establecer las relaciones existentes entre las diferentes variables determinadas en el río Guadalquivir así como las que existen entre el comportamiento de dichas variables y los usos del suelo en las márgenes del río.

ESTUDIO ESTADISTICO

Una vez expuestos los resultados obtenidos en la caracterización del río Guadalquivir, resulta indispensable establecer la existencia de relaciones entre las variables determinadas en las aguas del río y las actividades humanas existentes en el mismo. Aunque algunas de estas relaciones se vislumbran en el perfil espacial que cada variable presenta a lo largo del río, resulta mucho más interesante el uso de diferentes herramientas estadísticas que permiten obtener una visión global del sistema. En vista de la gran cantidad de pruebas y análisis estadísticos disponibles para realizar el tratamiento de datos, se eligieron aquellos cuyos resultados permitían alcanzar los objetivos propuestos.

En primer lugar resulta interesante establecer la existencia de relaciones entre diferentes variables con un doble objetivo. Por un lado, el hecho de que existan variables que se encuentran fuertemente relacionadas entre sí implicaría la existencia de una fuente común para las variaciones que presentan en el río, y por otro lado permitiría que el sistema quedara totalmente descrito con un menor número de variables al ser unas dependientes de las otras.

En segundo lugar, es interesante encontrar relaciones entre las diferentes estaciones de muestreo elegidas en relación con los valores que presentan para cada variable, de modo que se establezcan grupos de estaciones que presentan resultados similares para un grupo de variables determinadas. Estas relaciones, junto con el conocimiento de las características propias de cada estación desde el punto de vista de los usos del suelo, va a permitir establecer cuáles son las actividades, de las que se encuentran presentes en el río, que controlan principalmente cada una de las variables estudiadas.

Para conseguir encontrar estas relaciones se han utilizado dos técnicas estadísticas, cuyo uso se encuentra ampliamente extendido en el análisis de datos ambientales, que son el análisis de componentes principales (PCA) y el análisis de conglomerados o análisis cluster.

Con el primero de ellos, el análisis de componentes principales, se estudia la estructura de los datos buscando tendencias ocultas en los mismos y las fuentes de varianza a las que obedecen, de modo que mediante combinaciones lineales de las

variables medidas establece nuevas variables, llamadas componentes principales. Este análisis resulta una técnica muy útil para reducir las dimensiones cuando se trabaja con un gran número de datos, ya que cada uno de esos componentes principales se busca de forma que explique la mayor parte de la varianza observada en estos datos, de modo que unas pocas variables resultan representativas de ellos. Por otro lado, como ocurre en el caso particular de este estudio, además de la reducción de dimensiones, permite establecer grupos de variables cuyas variaciones a lo largo del río se encuentren controladas por un factor común, así como grupos de estaciones caracterizadas por un grupo de variables determinadas.

La segunda herramienta estadística, el análisis cluster, es una técnica exploratoria que se basa en la medida de similitud entre los objetos, de forma que los divide en una serie de clases (“clusters”)de manera que los objetos dentro de una clase son similares unos a otros pero diferentes de los que se encuentran en otras clases. Con esta técnica se pueden realizar agrupaciones de estaciones de muestreo que presentan unas mismas características físico-químicas, o bien agrupar variables que presentan un comportamiento similar a lo largo del río. Con el análisis cluster sólo se realizan grupos mediante la comparación de los valores obtenidos para cada variable y cada estación de muestreo, pero no explica la varianza presente en los datos ni busca la fuente de la misma.

En este tipo de estudios resulta esencial señalar la importancia de preparar correctamente la matriz de datos de forma que estos análisis no den lugar a conclusiones falsas, por lo que a continuación, y antes de exponer los análisis realizados, se presentan brevemente algunos tratamientos iniciales realizados a los datos.

Preparación de la matriz de datos

En primer lugar, y en vista de los resultados obtenidos del estudio espacio-temporal de cada variable, que concluían que no existían dependencias estacionales para las variables estudiadas, el análisis de los datos se ha realizado sobre una matriz con los valores medios de las variables obtenidos entre los seis muestreos para cada una de las estaciones, y que se presentan en la tabla III.3.

Tabla III.3. Valores medios para las variables determinadas en el río Guadalquivir.

Estación	Conductividad ^(a)	pH	O.D. ^(b)	s.s. ^(b)	NH ₄ ⁺ ^(c)	PO ₄ ³⁻ ^(c)	NO ₂ ⁻ ^(c)	NO ₃ ⁻ ^(b)	Co ^(d)	Ni ^(e)	Zn ^(c)	Pb ^(d)	Cu ^(e)	Cd ^(d)	Mn ^(c)
G-1	1,13	7,78	7,71	37,81	170,13	60,40	118,86	8,47	200,71	2,54	1,45	76,73	2,79	8,43	23,26
G-2	1,10	7,80	6,74	79,50	182,89	60,44	112,04	5,93	169,26	2,22	0,48	52,22	2,39	5,44	30,25
G-3	1,08	7,77	6,60	112,24	258,32	66,79	113,66	5,53	169,42	2,39	0,52	70,92	2,16	5,68	33,79
G-4	1,01	7,76	6,71	85,42	204,58	69,43	100,23	4,78	157,59	2,13	0,41	54,51	2,02	7,28	33,95
G-5	1,01	7,78	6,62	126,74	256,27	84,52	124,79	5,43	190,83	2,14	0,37	62,29	2,10	4,11	37,23
G-6	1,08	7,65	4,70	99,15	410,5	103,59	209,82	5,60	209,90	2,32	0,81	81,70	1,85	5,69	59,39
G-7	1,11	7,72	4,32	87,44	417,37	113,76	224,28	5,57	190,25	2,35	1,29	99,82	1,80	6,85	51,39
G-8	1,13	7,62	3,46	161,38	169,51	112,60	174,08	5,62	206,55	2,78	1,06	130,14	1,99	6,37	31,81
G-9	1,23	7,64	3,80	242,00	136,08	142,70	137,52	5,47	167,72	3,02	1,65	116,03	2,44	9,56	21,41
G-10	1,26	7,66	3,54	224,56	104,74	136,28	104,19	5,31	132,10	3,00	1,10	113,16	2,29	6,94	17,41
G-11	1,24	7,59	5,34	447,43	71,89	121,38	81,22	5,33	105,61	2,46	1,40	105,63	2,58	6,70	9,80
G-12	1,42	7,68	5,69	552,97	103,33	123,90	55,72	4,60	115,14	2,98	2,66	164,02	2,98	7,79	9,14
G-13	2,61	7,71	7,06	193,66	58,72	121,74	54,56	4,59	63,32	2,62	1,60	60,44	3,24	11,61	3,25
G-14	19,79	7,92	6,70	119,50	2,40	106,70	17,01	1,67	42,51	1,5	1,79	22,93	4,63	34,96	1,34
G-15	7,67	7,82	7,39	256,40	38,44	152,83	63,78	3,13	190,75	2,54	2,34	57,64	4,58	12,16	14,87
G-16	23,90	7,96	6,19	48,40	2,40	77,60	25,56	1,14	31,10	1,59	1,14	50,77	4,46	22,77	1,23
G-17	10,80	7,84	7,55	250,60	16,93	108,64	38,95	2,41	128,46	2,52	2,53	45,03	3,74	27,12	15,36
G-18	24,32	7,98	8,77	45,42	20,93	50,69	16,17	2,84	42,16	1,81	2,14	50,87	2,87	25,41	1,74
G-19	12,83	8,02	8,00	18,59	2,40	138,44	6,10	2,45	34,50	2,15	0,85	45,79	4,05	9,16	4,57
G-20	36,60	7,99	7,33	24,50	2,40	65,04	21,87	0,86	43,31	1,03	3,26	26,30	3,44	54,19	2,33
G-21	24,67	7,93	8,08	108,32	38,76	84,94	19,31	2,98	207,13	2,20	3,71	169,49	3,15	35,84	21,82
G-22	41,50	8,04	7,70	52,53	2,40	73,17	12,94	1,20	202,81	1,93	2,58	43,10	2,14	40,33	13,13
G-23	37,54	8,01	8,50	85,18	42,93	68,81	10,83	1,18	85,15	1,57	3,21	129,95	2,77	42,44	3,40
G-24	47,45	8,11	7,55	50,70	16,34	39,91	6,44	0,44	60,91	1,18	3,00	189,83	2,37	38,51	7,13
G-25	44,30	8,19	8,44	36,12	2,40	41,90	4,09	1,22	87,68	0,69	1,96	157,62	2,25	44,85	7,73
G-26	50,70	8,20	8,50	13,60	2,40	6,09	0,98	1,95	55,01	0,64	0,99	108,65	1,29	34,08	3,91

(a) mS·cm⁻¹; (b) mg·L⁻¹; (c) µg·L⁻¹; (d) µg·L⁻¹; (e) ng·L⁻¹.

Debido a que entre las variables estudiadas existen algunas que se encuentran presentes en concentraciones altas en las aguas del Guadalquivir y otras que se encuentran en concentraciones muy bajas, es necesario realizar una transformación de los datos que elimine estas diferencias de orden antes de realizar los análisis estadísticos. La transformación que se ha efectuado en este caso es convertir los datos a la escala Z o escala tipificada, de modo que tendremos lo que se denomina variables tipificadas o estandarizadas.

Para tipificar un valor cualquiera, x_i , se hace coincidir la media \bar{x} con el centro del sistema de coordenadas, y se divide por la desviación estándar, s , de modo que la nueva variable t_i responde a la siguiente ecuación (Ramis y García, 2001):

$$t_i = \frac{x_i - \bar{x}}{s} \quad \text{[III.1]}$$

De este modo la nueva escala se caracteriza por tener un valor medio de cero, y como desviación estándar la unidad, eliminando los errores que pueden aparecer en el análisis estadístico debidos a las diferencias de orden de magnitud entre las variables.

La matriz de datos con los valores tipificados se muestra en la tabla III.4.

Tabla III.4. Valores medios tipificados para las variables determinadas en el río Guadalquivir

Estación	Conductividad	pH	O.D.	s.s.	NH ₄ ⁺	PO ₄ ³⁻	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻	Co	Ni	Zn	Pb	Cu	Cd	Mn
G-1	-0,81	-0,43	0,72	-0,76	0,53	-0,80	0,72	2,26	1,14	0,67	-0,26	-0,24	0,00	-0,72	0,35
G-2	-0,81	-0,27	0,10	-0,44	0,64	-0,79	0,62	1,06	0,66	0,19	-1,27	-0,76	-0,43	-0,91	0,78
G-3	-0,81	-0,45	0,01	-0,19	1,25	-0,62	0,64	0,87	0,66	0,45	-1,23	-0,36	-0,69	-0,90	1,01
G-4	-0,82	-0,50	0,08	-0,39	0,81	-0,55	0,44	0,52	0,48	0,07	-1,34	-0,71	-0,85	-0,79	1,02
G-5	-0,82	-0,43	0,03	-0,08	1,23	-0,14	0,81	0,83	0,99	0,08	-1,38	-0,55	-0,76	-1,00	1,22
G-6	-0,81	-1,16	-1,19	-0,29	2,49	0,38	2,11	0,91	1,28	0,35	-0,93	-0,13	-1,03	-0,90	2,61
G-7	-0,81	-0,76	-1,43	-0,38	2,54	0,65	2,33	0,89	0,98	0,39	-0,43	0,25	-1,09	-0,82	2,11
G-8	-0,81	-1,30	-1,98	0,19	0,53	0,62	1,56	0,92	1,23	1,03	-0,66	0,90	-0,88	-0,85	0,88
G-9	-0,80	-1,20	-1,76	0,80	0,26	1,44	1,01	0,85	0,63	1,38	-0,05	0,60	-0,38	-0,65	0,23
G-10	-0,80	-1,09	-1,93	0,67	0,00	1,26	0,50	0,77	0,09	1,37	-0,63	0,54	-0,55	-0,82	-0,02
G-11	-0,80	-1,49	-0,78	2,38	-0,27	0,86	0,15	0,78	-0,32	0,56	-0,31	0,38	-0,22	-0,83	-0,50
G-12	-0,79	-0,97	-0,56	3,19	-0,01	0,93	-0,24	0,43	-0,18	1,34	0,99	1,62	0,22	-0,76	-0,54
G-13	-0,73	-0,77	0,30	0,43	-0,37	0,87	-0,26	0,43	-0,97	0,79	-0,11	-0,58	0,51	-0,52	-0,91
G-14	0,25	0,38	0,08	-0,13	-0,83	0,46	-0,83	-0,95	-1,29	-0,87	0,09	-1,38	2,05	0,96	-1,02
G-15	-0,44	-0,18	0,51	0,92	-0,54	1,71	-0,12	-0,26	0,99	0,68	0,66	-0,64	1,99	-0,48	-0,18
G-16	0,49	0,61	-0,25	-0,68	-0,83	-0,33	-0,70	-1,20	-1,47	-0,75	-0,59	-0,79	1,86	0,19	-1,03
G-17	-0,26	-0,07	0,61	0,87	-0,83	0,51	-0,49	-0,60	0,03	0,64	0,86	-0,91	1,06	0,47	-0,15
G-18	0,51	0,72	1,39	-0,70	-0,68	-1,06	-0,84	-0,40	-1,30	-0,41	0,46	-0,79	0,10	0,36	-1,00
G-19	-0,14	0,94	0,90	-0,91	-0,83	1,32	-0,99	-0,58	-1,42	0,09	-0,89	-0,90	1,40	-0,67	-0,82
G-20	1,21	0,78	0,47	-0,86	-0,83	-0,67	-0,75	-1,33	-1,28	-1,58	1,61	-1,31	0,73	2,19	-0,96
G-21	0,53	0,42	0,95	-0,22	-0,54	-0,13	-0,79	-0,33	1,24	0,17	2,08	1,74	0,40	1,02	0,26
G-22	1,49	1,03	0,71	-0,65	-0,83	-0,45	-0,89	-1,17	1,17	-0,23	0,90	-0,95	-0,71	1,31	-0,29
G-23	1,26	0,91	1,22	-0,40	-0,50	-0,57	-0,92	-1,18	-0,64	-0,78	1,56	0,90	-0,01	1,44	-0,90
G-24	1,83	1,43	0,61	-0,66	-0,72	-1,35	-0,99	-1,53	-1,01	-1,36	1,35	2,17	-0,46	1,19	-0,66
G-25	1,65	1,90	1,18	-0,77	-0,83	-1,30	-1,02	-1,16	-0,60	-2,09	0,27	1,48	-0,59	1,59	-0,62
G-26	2,01	1,95	.	-0,94	-0,83	-2,27	-1,07	-0,82	-1,10	-2,17	-0,74	0,44	-1,66	0,91	-0,86

ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES

Para proceder con el análisis de los componentes principales, se parte de la matriz de datos tipificados, de modo que los elementos de las columnas forman vectores para cada variable, y los de las filas forman vectores para cada estación de muestreo, tal y como se ha presentado en la tabla III.4. La idea del análisis es encontrar una serie de nuevos vectores, componentes principales, que sean combinaciones lineales de las variables originales y que modelen las tendencias presentes en la nube de datos. Por ello, observando la nube de datos se buscan aquellos vectores que apunten en direcciones del espacio bien diferenciadas respecto a la distribución meramente aleatoria, y en el caso del análisis de componentes principales, dicho vector se encuentra ignorando deliberadamente la pertenencia de cada objeto a una categoría (Ramis y García, 2001). En la ecuación III.2 se observa la relación existente entre estos nuevos vectores ($Z = \{Z_1, Z_2, \dots\}$) y las variables originales ($X = \{X_1, X_2, \dots\}$).

$$Z_1 = a_{11} \cdot X_1 + a_{12} X_2 + \dots \quad \text{[III.2]}$$

$$Z_2 = a_{21} \cdot X_1 + a_{22} X_2 + \dots$$

....

En estas ecuaciones, los parámetros a_{ij} se eligen de forma que las nuevas variables sean entre sí linealmente independientes con la condición de que los vectores deben ser ortogonales. Además, la primera de las componentes principales debe recoger la mayor parte de variación que hay en el conjunto de datos, la segunda recogería la segunda mayor parte y así sucesivamente. Es decir, se construyen siguiendo el criterio de hacer máxima la varianza explicada y mínima la varianza residual, de modo que cuando se han obtenido todos los componentes la varianza residual se reduce a cero (Miller y Miller, 2002).

De este modo los vectores que constituyen las componentes principales han rotado hasta formar una serie de ángulos distintos respecto a los valores originales de manera que definen un nuevo espacio, aunque durante esa rotación deben mantener la ortogonalidad entre ellos. Esta rotación, denominada rotación propia, implica obtener un conjunto nuevo de coordenadas de los objetos sobre los ejes que se denominan puntuaciones. Estas puntuaciones son sumas ponderadas de las variables iniciales x_i , de modo que se transforman de acuerdo con el sistema de ecuaciones:

$$\begin{aligned} u_{i1}\lambda_1 &= v_{11}x_{i1} + v_{12}x_{i2} \\ u_{i2}\lambda_2 &= v_{21}x_{i1} + v_{22}x_{i2} \end{aligned} \quad \text{[III.4]}$$

.....

De este modo, los valores v se denominan cargas y representan las contribuciones de cada variable original a cada uno de los componentes principales, mientras que λ representa los autovalores, que son las varianzas explicadas de los componentes. Todos estos valores son los que van a permitir explicar las relaciones existentes en la nube de puntos.

Además de esta rotación propia se pueden realizar rotaciones adicionales con el fin de aumentar su correlación con las variables fundamentales. La rotación facilita el análisis de datos, ya que permite identificar con mayor nitidez qué variable contribuye a cada factor subyacente, y aunque no afecta al porcentaje de varianza explicada sí puede cambiar la de cada factor. Existen dos tipos de rotaciones, las que preservan la ortogonalidad entre los componentes rotados y las oblicuas, que permiten que los componentes rotados estén correlacionados.

Finalmente, hay que tener en cuenta que a partir de un grupo de m variables iniciales se pueden conseguir m componentes principales, aunque utilizando sólo un número reducido de ellos se puede explicar las tendencias de una nube de puntos. A la hora de decidir cuál es el número de componentes necesario para explicar el modelo sin pérdida de información se pueden utilizar diferentes criterios. Uno de ellos se basa en el uso de los gráficos del porcentaje de varianza acumulada o gráficos de sedimentación, en los que se representan directamente los autovalores en función de su número de orden. La decisión de cuando dejar de extraer factores depende básicamente de que haya sólo una pequeña variabilidad aleatoria, lo cual significa que la extracción de un nuevo factor no mejora significativamente la información. Esta situación suele identificarse visualmente mediante cambios de pendiente en el gráfico.

A continuación se presentan los resultados obtenidos del análisis de componentes principales realizado a los datos obtenidos en las aguas del río Guadalquivir, realizando una rotación propia y una rotación adicional que preserva la ortogonalidad.

1. Rotación propia

El análisis de componentes principales mediante una rotación propia se efectuó en primer lugar omitiendo los datos de conductividad, ya que este parámetro establecía una clara diferenciación entre las muestras dividiéndolas a priori en dos grupos, las procedentes de la zona fluvial del río y las estuáricas, lo que podría llevar a obtener resultados sesgados. No obstante, se realizó otro análisis similar teniendo en cuenta dicho parámetro, puesto que permitiría establecer qué variables se encuentran controladas principalmente por la mezcla de las aguas. Los resultados obtenidos en ambos casos se muestran a continuación.

a. Sin conductividad

Cuando se aplicó el análisis de componentes principales a la matriz de datos sin considerar la variable conductividad, se obtuvo la siguiente matriz de autovalores.

Tabla III.5. Matriz de autovalores para la rotación propia sin la variable conductividad.

Componentes	Autovalores	% de varianza explicada	% varianza acumulada
1	7,268	51,915	51,915
2	2,575	18,390	70,305
3	1,571	11,224	81,529
4	0,855	6,105	87,634
5	0,610	4,358	91,992
6	0,327	2,334	94,326
7	0,266	1,900	96,226
8	0,233	1,666	97,892
9	0,145	1,033	98,925
10	0,073	0,522	99,447
11	0,033	0,232	99,679
12	0,021	0,151	99,830
13	0,015	0,105	99,936
14	0,009	0,064	100,000

Al representar los autovalores frente al número de componente se obtiene el gráfico de sedimentación que se presenta en la figura III.34, donde se observa que a partir del cuarto componente el cambio en la pendiente es mínimo, por lo que se considera que tres componentes son suficientes para explicar la mayor parte de la

varianza presente en los datos. Como se puede ver en la matriz de autovalores, estos tres componentes explicarían el 81,53 % de la varianza total.

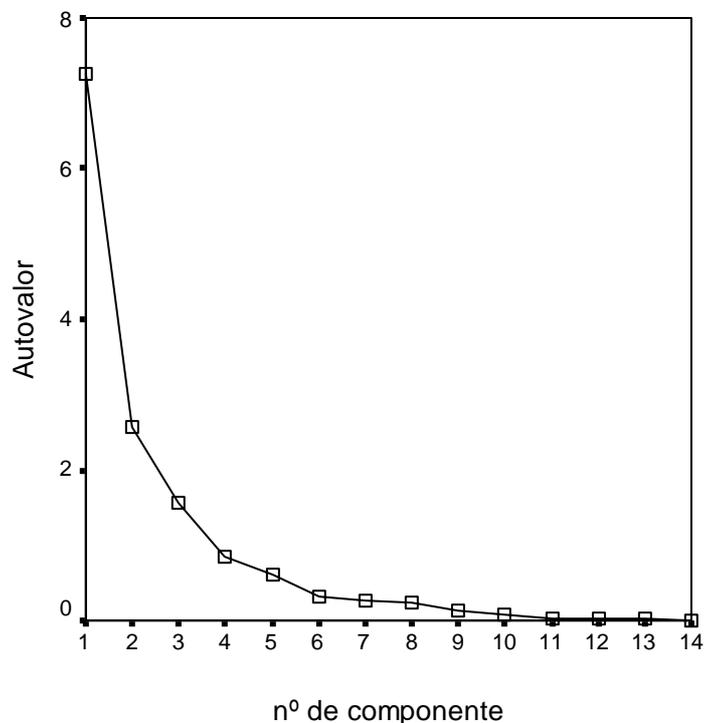


Figura III.34. Gráfico de sedimentación.

Para cada uno de estos tres componentes se calculan las cargas de cada variable, que expresan la contribución de dicha variable sobre cada componente, quedando un componente definido por las variables que presenten una contribución alta para él. Uno de los criterios más extendidos es quedarse con aquellas variables que presenten cargas superiores a 0,7 para definir cada componente. En la tabla III.6 se muestran las cargas de cada variable para los tres componentes principales extraídos.

Como se puede observar, el primer componente agrupa a la mayor parte de las variables, presentando algunas de ellas una carga positiva, como amonio, nitritos, nitratos, cobalto, níquel y manganeso, mientras que otras presentan una carga negativa. Todas las variables con carga positiva tuvieron sus máximos valores relacionados con actividades urbanas, mientras que las de cargas negativas se encontraron fuertemente influidas por la mezcla de aguas. La diferencia de signo indicaría pues un contraste entre ambos tipos de comportamiento (Ramis y García, 2001). En el segundo

componente contribuyen los sólidos en suspensión, los fosfatos y el cobre, parámetros que presentaron sus mayores concentraciones relacionadas con las actividades agrícolas, y en el tercer componente sólo contribuye de forma destacada el plomo, al que ya le había sido atribuido un comportamiento único en las aguas del río Guadalquivir. El zinc presentó sus cargas muy repartidas entre los tres componentes, sin que mostrara una clara contribución a uno de ellos en particular.

Tabla III.6. Matriz de cargas para la rotación propia sin la variable conductividad.

	Componente		
	1	2	3
pH	-0,907	-0,335	-0,012
Oxígeno Disuelto	-0,786	-0,180	-0,124
Sólidos en suspensión	0,400	0,704	0,362
N-NH₄⁺	0,835	-0,431	-0,024
P-PO₄³⁻	0,525	0,748	-0,069
N-NO₂⁻	0,933	-0,233	-0,012
N-NO₃⁻	0,891	-0,069	-0,062
Cobalto	0,712	-0,228	0,248
Níquel	0,801	0,488	0,044
Zinc	-0,567	0,325	0,560
Plomo	0,015	-0,074	0,906
Cobre	-0,364	0,707	-0,402
Cadmio	-0,880	-0,122	0,236
Manganeso	0,808	-0,463	0,029

Para esclarecer aún más las relaciones existentes entre las variables determinadas en las aguas del río Guadalquivir y los usos del suelo en la cuenca, en la figura III.35 se han representado sobre un diagrama conjunto las cargas de cada variables y las puntuaciones obtenidas para cada objeto sobre los nuevos ejes (componentes principales).

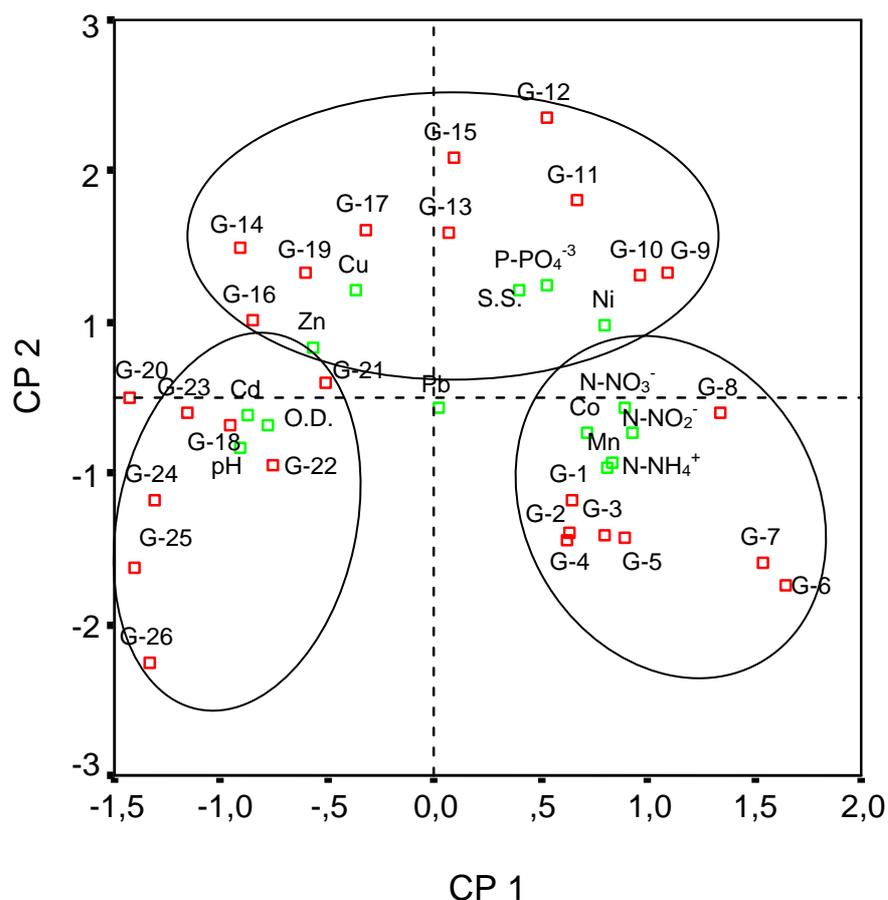


Figura III.35. Gráfico de cargas y puntuaciones para la rotación propia sin la variable conductividad.

En la figura puede observarse cómo el signo del primer componente principal sirve para delimitar claramente dos grupos de estaciones, por un lado las de la parte fluvial del río (G1-G13) y por otro las de la desembocadura (G14-G26). Estas últimas, principalmente las de la zona de mayor salinidad (G20-G26) se relacionan con las variables cadmio, pH y oxígeno disuelto, indicando su dependencia de la mezcla de aguas en el estuario.

En cuanto a las estaciones fluviales, se ve claramente como las del primer tramo del río se relacionan con las variables nitritos, nitratos, amonio, cobalto y manganeso, estableciéndose claramente la influencia que las actividades urbanas ejercen sobre ellas. En la figura destaca en este grupo un par de estaciones (G6 y G7) que se apartan ligeramente del resto al presentar mayores puntuaciones del componente uno y que

corresponden con la ciudad de Sevilla, indicando la gran importancia que este núcleo urbano ejerce sobre la calidad de las aguas del río.

Por otro lado, las estaciones intermedias donde la agricultura es la principal actividad se relacionan con las variables sólidos en suspensión, fosfatos y níquel indicando el origen agrícola de éstas.

El plomo, se sitúa en el centro como cabía esperar al estar únicamente representado en el tercer componente. Las gráficas de este último componente frente a los otros dos no se presentan por considerar que no aportan más información.

b. Con conductividad

La matriz de autovalores obtenida cuando se añade como variable la conductividad se muestra en la tabla III.7.

Tabla III.7. Matriz de autovalores para la rotación propia.

Componentes	Autovalores	% de varianza explicada	% varianza acumulada
1	8,090	53,934	53,934
2	2,651	17,673	71,607
3	1,621	10,806	82,413
4	0,855	5,699	88,112
5	0,628	4,187	92,299
6	0,328	2,186	94,485
7	0,278	1,854	96,339
8	0,236	1,571	97,911
9	0,145	0,964	98,875
10	0,074	0,491	99,366
11	0,041	0,275	99,641
12	0,022	0,145	99,786
13	0,016	0,106	99,892
14	0,010	0,066	99,958
15	0,006	0,042	100,000

Al igual que en el caso anterior, cuando se representan los autovalores frente al número de componentes extraídos en un gráfico de sedimentación, que se puede observar en la figura III.36, se extraen tres componentes principales que permiten explicar el 82,41% de la varianza. Las cargas calculadas para cada uno de los tres componentes se muestran en la tabla III.8.

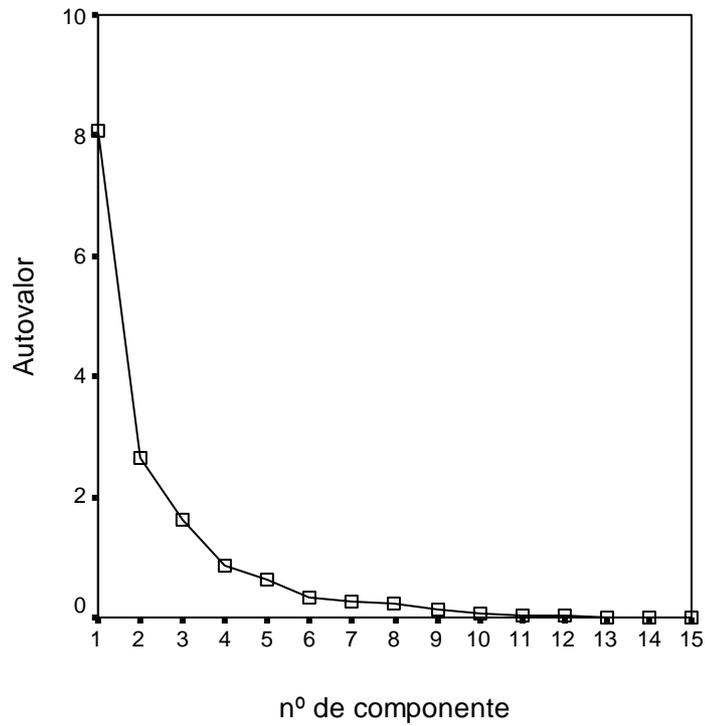


Figura III.36. Gráfico de sedimentación.

Tabla III.8. Matriz de cargas para la rotación propia.

	Componente		
	1	2	3
pH	-0,922	-0,288	-0,060
Oxígeno Disuelto	-0,779	-0,121	-0,177
Sólidos en suspensión	0,423	0,663	0,413
N-NH₄⁺	0,813	-0,470	-0,024
P-PO₄³⁻	0,556	0,717	0,003
N-NO₂⁻	0,917	-0,282	0,008
N-NO₃⁻	0,896	-0,102	-0,050
Cobalto	0,690	-0,279	0,257
Níquel	0,824	0,446	0,095
Zinc	-0,569	0,320	0,560
Plomo	-0,017	-0,125	0,895
Cobre	-0,313	0,749	-0,372
Cadmio	-0,896	-0,095	0,207
Manganeso	0,783	-0,505	0,028
Conductividad	-0,920	-0,264	0,204

Como se observa en la tabla, prácticamente no existen diferencias con los resultados obtenidos sin la conductividad, destacando que esta variable contribuye casi en su totalidad al primer componente, y con signo negativo, de forma que su comportamiento se asocia al de pH, cadmio y oxígeno disuelto, precisamente las variables relacionadas con la entrada de agua salina, responsable del aumento de conductividad en el río.

En la gráfica de puntuaciones y cargas representada en la figura III.37, se ve con mayor claridad que la conductividad, como cabía esperar, se asocia con las estaciones de la desembocadura, así como con las variables ya citadas. El resto de la distribución de puntos permanece prácticamente invariable, lo que indica que el considerar éste parámetro en el estudio no distorsiona en modo alguno las conclusiones que se obtienen, sino que incluso refuerza alguna de ellas.

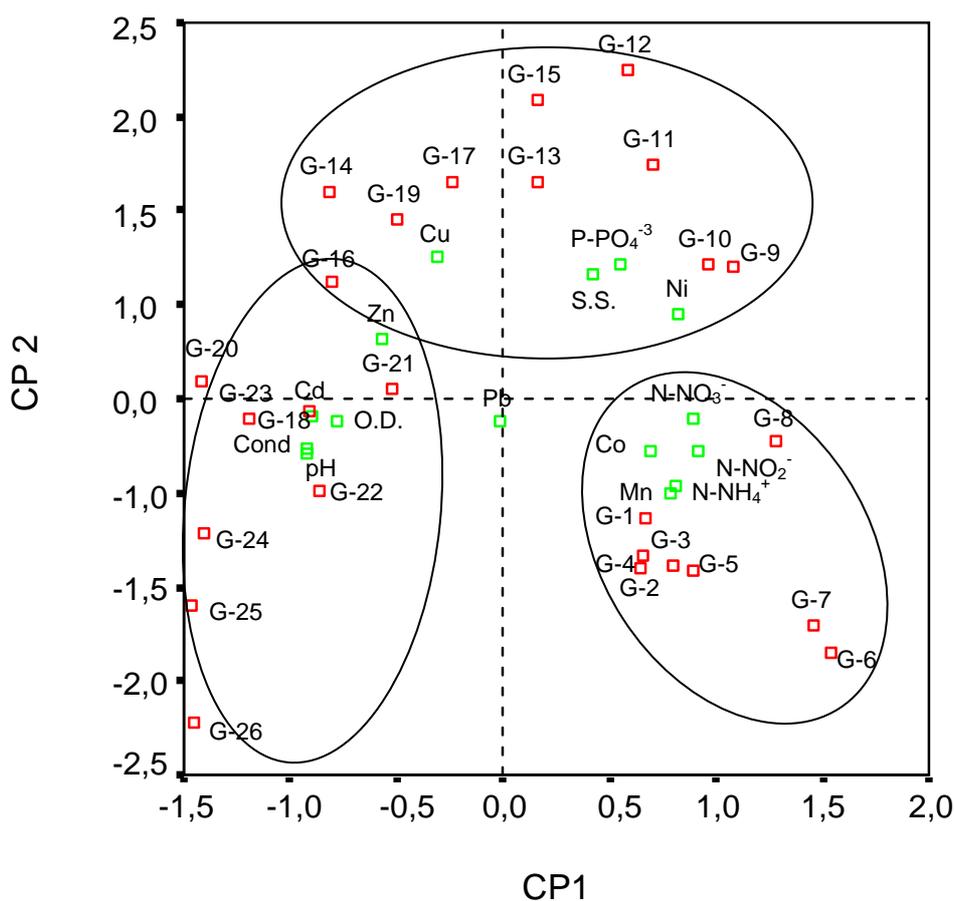


Figura III.37. Gráfico de cargas y puntuaciones para la rotación propia.

Una vez efectuada la rotación propia, se realizó una rotación adicional, ya que existen algunas variables que reparten cargas elevadas entre varios componentes y una nueva rotación ayuda a distinguir con mayor nitidez qué variables construyen cada factor. En este caso se ha optado por la rotación Varimax, que mantiene la ortogonalidad de los componentes.

2. Rotación Varimax

En esta rotación se minimiza el número de variables que tienen cargas altas sobre cada factor, de modo que resulta un vector con unas pocas cargas altas y todas las demás bajas o casi cero. En este caso se ha realizado el análisis con todas las componentes, ya que la conductividad no afectó a los resultados obtenidos con la rotación propia. La matriz de autovalores obtenida con esta rotación adicional es idéntica a la correspondiente a la rotación propia (tabla III.7) ya que no afecta a la varianza explicada, aunque la carga sobre cada componente sí es diferente como puede observarse en la tabla III.9.

Tabla III.9. Matriz de cargas para la rotación Varimax.

	Componentes		
	1	2	3
pH	-0,497	-0,826	0,090
Oxígeno Disuelto	-0,512	-0,622	-0,053
Sólidos en suspensión	-0,091	0,824	0,319
N-NH₄⁺	0,914	0,178	-0,127
P-PO₄⁻³	-0,064	0,899	-0,108
N-NO₂⁻	0,869	0,391	-0,118
N-NO₃⁻	0,728	0,503	-0,179
Cobalto	0,719	0,276	0,161
Níquel	0,323	0,883	-0,047
Zinc	-0,587	-0,061	0,626
Plomo	0,148	0,010	0,891
Cobre	-0,762	0,306	-0,350
Cadmio	-0,584	-0,630	0,342
Manganeso	0,919	0,139	-0,070
Conductividad	-0,489	-0,772	0,350

En este caso, el primer componente se encuentra determinado principalmente por los parámetros que mostraron sus máximas concentraciones en el área urbana, y el cobre, que presenta signo negativo por su comportamiento opuesto al de las otras variables que forman este componente.

En el segundo componente se agrupan aquellas variables que presentaron sus máximos en el área agrícola, además de pH, cadmio y conductividad con signo negativo indicando una fuente de variación distinta para ellos en contraste con la que presentan sólidos en suspensión, fosfatos y níquel.

Por último y al igual que ocurría con la rotación propia, al tercer componente sólo contribuye de forma significativa el plomo, cuyo comportamiento no se asocia al de ninguna otra variable.

A pesar de la rotación adicional existen dos variables que siguen repartiendo cargas relativamente altas entre dos componentes. Es el caso del zinc, que por una lado se encuentra en el primer componente asociado al comportamiento del cobre y en el tercero relacionándose con el del plomo, y el caso del oxígeno disuelto que se reparte entre el primero y el segundo componente. Este hecho indica que el comportamiento de ambos no puede asociarse únicamente a un factor, sino que depende de una combinación de factores.

En el gráfico de cargas y componentes de la figura III.38 se ven más claramente las relaciones de cada variable con las actividades desarrolladas en el río Guadalquivir.

En este caso, las estaciones correspondientes al primer tramo de la zona de estudio se agrupan sin lugar a dudas sobre el primer componente, indicando claramente la influencia urbana, especialmente las estaciones correspondientes a Sevilla (G-6 y G-7) que presentan una puntuación mucho más alta que el resto sobre este componente. Del mismo modo se ve cómo las variables manganeso, cobalto, amoníaco, nitritos y nitratos se asocian con este grupo de estaciones, aunque en el caso de los nitratos su carga en el segundo componente es algo mayor indicando cierta influencia agrícola sobre la variable.

Por el contrario, el grupo de estaciones G9-G13 presentan su mayor puntuación sobre el segundo componente indicando su carácter agrícola, y a ellas se asocian las variables sólidos en suspensión, fosfatos y níquel, aunque este último presenta además cierto carácter de origen urbano. La estación G-8 se encuentra representada casi por un

50% en cada componente, como cabría esperar al ser el punto de tránsito entre las actividades urbanas y las agrícolas.

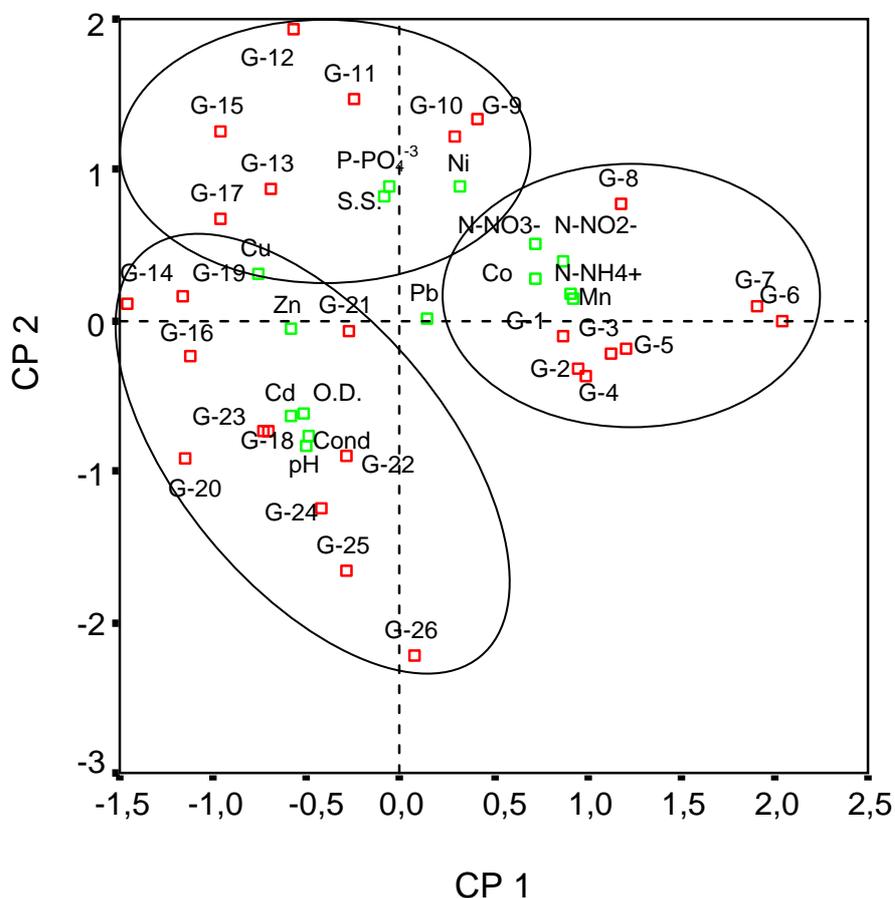


Figura III.38. Gráfico de cargas y puntuaciones para la rotación Varimax.

Finalmente, en la mitad del gráfico correspondiente a la parte negativa del primer componente, se sitúan todas las estaciones de la desembocadura. Aquellas de mayor salinidad se asocian con los parámetros cadmio, conductividad, pH y oxígeno disuelto, indicando que dependen en gran medida de la mezcla de aguas en el estuario.

El plomo, al igual que ocurría con la rotación propia se sitúa en el centro del diagrama, ya que contribuye únicamente al tercer componente. Los diagramas respecto a este componente no se han incluido por considerar que no aportan más información que la ya expuesta.

ANÁLISIS CLUSTER

Como ya se ha comentado el análisis cluster es un esquema en el que los objetos se agrupan en una serie de clases de acuerdo a sus similitudes. Los grupos no suelen conocerse antes de realizar el análisis matemático y no se realiza ningún supuesto sobre la distribución de las variables.

La agrupación entre objetos puede llevarse a cabo mediante la comparación de las correlaciones bivariadas o de la distancia, pues ambos parámetros estadísticos indican similitud entre objetos. Así que antes de proceder al análisis es necesario decidir qué parámetro se va a utilizar para realizar las agrupaciones, en qué orden se realizarán los agrupamientos y el criterio de unión entre grupos o entre grupo e individuo. A continuación se explica brevemente cada uno de estos términos indicando cuál ha sido elegido para realizar este estudio.

Medidas de similitud

En este trabajo se ha utilizado como medida de similitud la distancia entre objetos, para lo cual hay que tener en cuenta que representa una medida de disimilitud, ya que las distancias son altas para objetos lejanos y bajas para los cercanos, y se convierten a similitud mediante la siguiente ecuación (Ramis y García, 2001):

$$S_{kl} = 1 - \frac{d_{kl}}{d_{\max}} \quad [\text{III.3}]$$

En esta ecuación d_{kl} representa la distancia entre los objetos k y l , y d_{\max} es la distancia que existe entre los dos objetos más alejados de la nube de puntos. De este modo se acotan entre 0 y 1 siendo el valor uno para las más coincidentes.

Habitualmente para cuantificar la distancia se utiliza la distancia Euclídea o en línea recta, que se interpreta como el módulo del vector diferencia entre los vectores que establecen la posición de k y l , aunque existen otras posibilidades como la distancia de Minkowski que se interpreta como un camino curvo entre dos puntos.

Orden en que se realizan los agrupamientos

El orden en que se realizan los agrupamientos en el análisis cluster da lugar a dos categorías distintas, los métodos jerárquicos y los no jerárquicos (Miller y Miller, 2002).

Los métodos no jerárquicos, como el método de k-medias, evalúa toda la distribución de pares de objetos y los clasifica en un número dado de grupos, de modo que se asume un número determinado de clusters iniciales. Cada individuo se asigna al conglomerado cuyo centroide se encuentre más próximo, de modo que cuando un conglomerado pierde o gana un punto se vuelve a calcular la posición del centroide. El proceso continúa hasta que cada punto se encuentre en el conglomerado cuyo centro sea el más próximo. Este método presenta dos desventajas claras, por un lado el agrupamiento final refleja la elección de los conglomerados iniciales, y por otro lado k, el valor de iteraciones, debe ser elegido previamente.

En los métodos jerárquicos una vez que se ha asignado un objeto a un grupo no se puede invertir, es decir, no admite la reasignación o cambios de posición de un individuo en distintos pasos del algoritmo. Comienza con el par más similar de objetos y forma clusters mayores paso a paso de forma secuencial. Las agrupaciones se representan como un árbol que se bifurca desde un tronco común hasta alcanzar tantas ramas como objetos se pretende agrupar o clasificar. A este tipo de gráficos se les denomina dendogramas, y pueden construirse teniendo en cuenta distintos parámetros estadísticos que se exponen a continuación.

Criterio de unión entre grupos para métodos jerárquicos

El dendograma se comienza a construir uniendo los puntos uno a uno comenzando por los dos más próximos. El siguiente paso consiste en sustituir el grupo ya formado por un punto que lo represente, que puede calcularse aplicando diferentes criterios (Ramis y García, 2001; Visauta, 2001).

a. Método del centroide

Los puntos que ya forman grupo quedan representados por su centroide, de modo que se mide la distancia entre los centroides de diferentes grupos o entre el centroide de un grupo y un individuo para construir los grupos sucesivos.

b. Método de la unión simple

Los puntos que forman grupo quedan representados por uno de ellos, que será el que presente menor distancia con respecto a cualquier otro punto que no pertenezca al grupo.

c. Método de la unión completa

Se aplica el método de la unión simple, y una vez seleccionada la menor distancia respecto a un punto externo del grupo, se sustituye el representante del grupo por aquél que presente la mayor distancia respecto al punto externo.

d. Método de la unión entre grupos

Define las distancias entre dos grupos como la media de las distancias entre todas las combinaciones posibles dos a dos de los elementos que forman ambos grupos.

e. Método de la unión intragrupos

Combina los grupos de manera que la media de las distancias entre todos los pares de sujetos dentro del grupo resultante sea la menor posible.

f. Método de Ward's

Se calcula para cada grupo la media de todas las variables, y posteriormente, para cada sujeto, se calcula la distancia euclídea al cuadrado respecto a esta media y se suma para todos ellos. En cada paso los cluster que se van formando son aquellos que resultan en un menor incremento de la suma global de distancias al cuadrado dentro del cluster.

En este trabajo el análisis cluster se ha utilizado con dos objetivos diferentes, por un lado para agrupar las distintas estaciones de muestreo de acuerdo a las similitudes existentes en la composición química de las aguas, y por otro para establecer comportamientos similares entre los parámetros que han sido determinados.

En vista de la gran variedad de técnicas existentes para la construcción de grupos, una buena forma de obtener agrupaciones fiables es utilizar diferentes

metodologías y distintas medidas de similitud para construirlas. Si las relaciones entre los distintos objetos son claras las conclusiones obtenidas a partir de los diferentes métodos deben ser las mismas.

Para realizar las agrupaciones se ha elegido un método jerárquico de clasificación utilizando la distancia Euclídea como medida de similitud. Para establecer la fortaleza de las conclusiones extraídas se han utilizado dos métodos de agrupación distintos, el de la unión entre grupos y el de Ward.

A continuación se exponen los resultados obtenidos con el análisis cluster aplicado en primer lugar para agrupar las estaciones de muestreo y en segundo lugar para las variables determinadas en las aguas del río Guadalquivir.

1. Formación de conglomerados para las estaciones de muestreo

Como ya se ha comentado, para formar los grupos se han utilizado dos métodos distintos de vinculación, el método de la unión entre grupos y el método de Ward. En la figura III.39 se muestra el dendograma obtenido para el primer caso y en la figura III.40 se muestra el dendograma obtenido con el método de vinculación de Ward. En ambos casos los dendogramas obtenidos fueron muy similares, lo que confirma la validez de los grupos formados.

Como se puede observar, los dendogramas se componen de dos grandes grupos de estaciones, uno de ellos incluye las correspondientes a la parte fluvial (G-1:G-12) y el otro a las que se encuentran en el estuario (G-13:G-26).

Dentro de las estaciones fluviales aquellas donde se sitúa Sevilla (G-6 y G-7) forman un grupo independiente, tal y como se observó en el análisis de componentes principales, y que se sitúa entre el grupo formado por las del primer tramo del río y el que forman las estaciones donde predominan las actividades agrícolas (G-8:G-12). En este último grupo, las estaciones G-11 y G-12 se agrupan acercándose al cluster de las estuáricas, ya que es en estas estaciones donde se había situado el punto de mezcla entre las aguas fluviales y marinas.

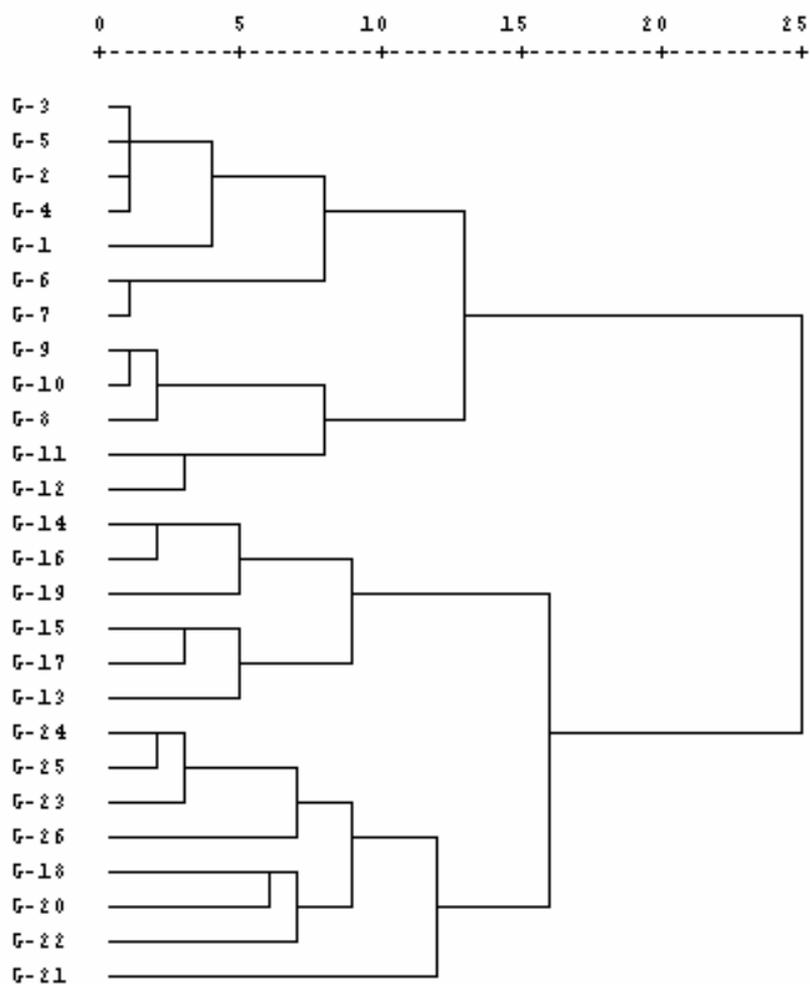


Figura III.39. Dendrograma construido con el método de la unión entre grupos.

En el grupo de las estaciones estuáricas aparecen dos nuevos grupos coincidiendo uno de ellos con las estaciones de mayor conductividad y otro con las de menor conductividad, que se encuentran más próximas a las fluviales. En ambos dendogramas se observa que la estación G-21 se separa quedando aislada del resto de las que conforman su cluster. Esto se debe a que en esta estación se sitúa la población de Sanlúcar de Barrameda, lo que le da un carácter especial dentro de la zona estuárica.

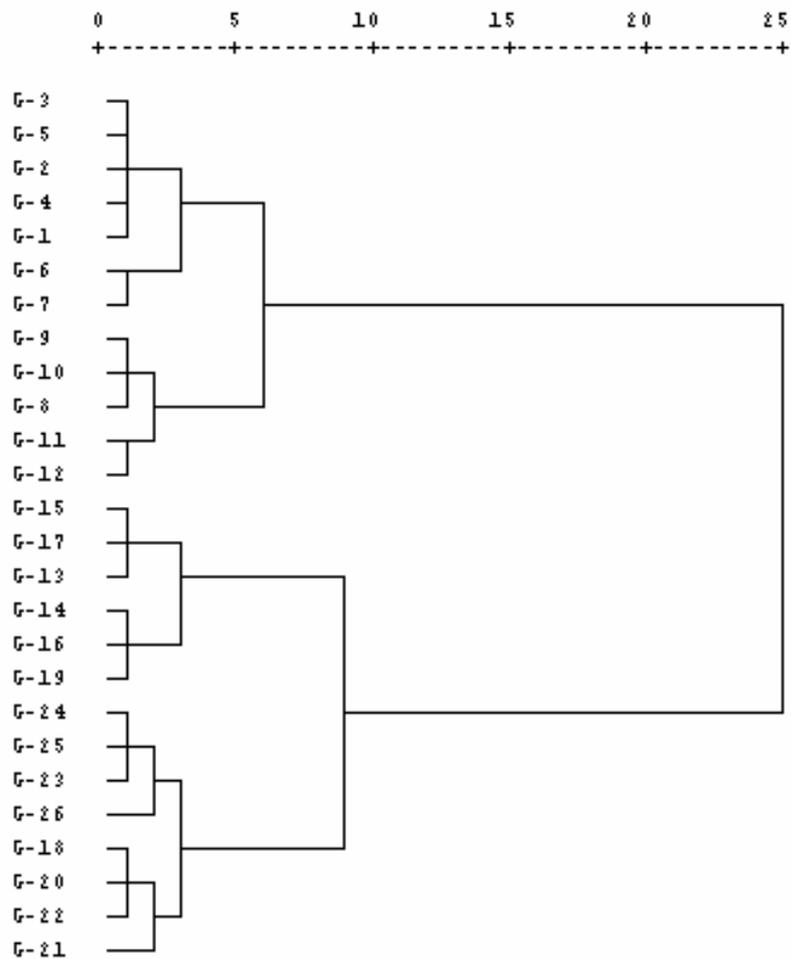


Figura III.40. Dendrograma construido con el método de Ward.

2. Formación de conglomerados para las variables

En este caso, al igual que para las estaciones de muestreo, se han realizado dos dendrogramas mediante los dos métodos de vinculación, el de unión entre grupos y el de Ward, que se muestran en la figura III.41 y figura III.42 respectivamente.

Al igual que ocurría con las estaciones ambos métodos de vinculación dan dendrogramas muy similares, por lo que se comentan conjuntamente señalando las pequeñas diferencias entre ellos.

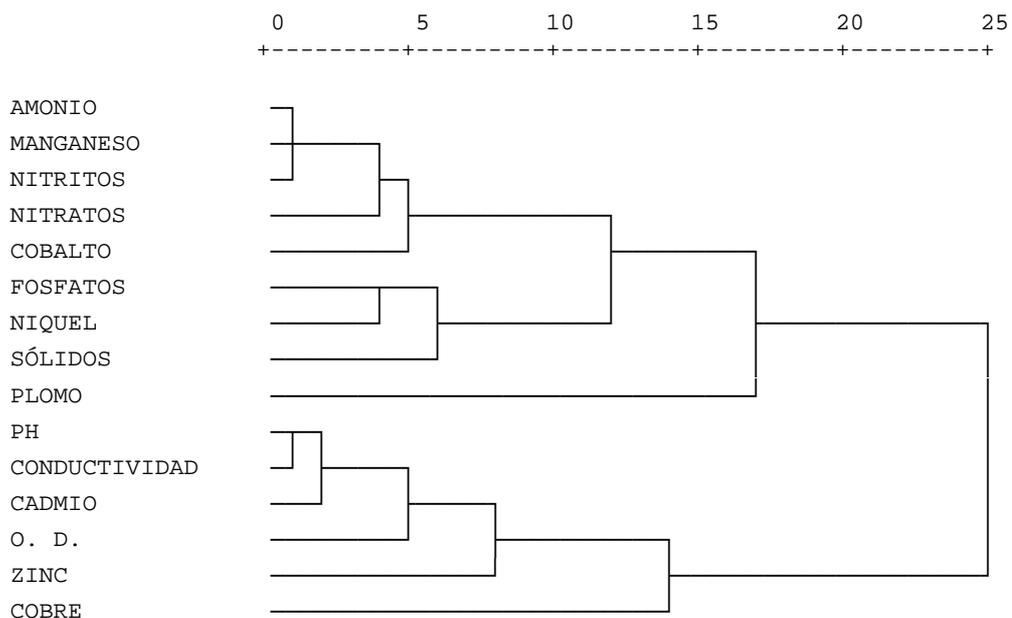


Figura III.41. Dendrograma construido con el método de vinculación entre grupos.

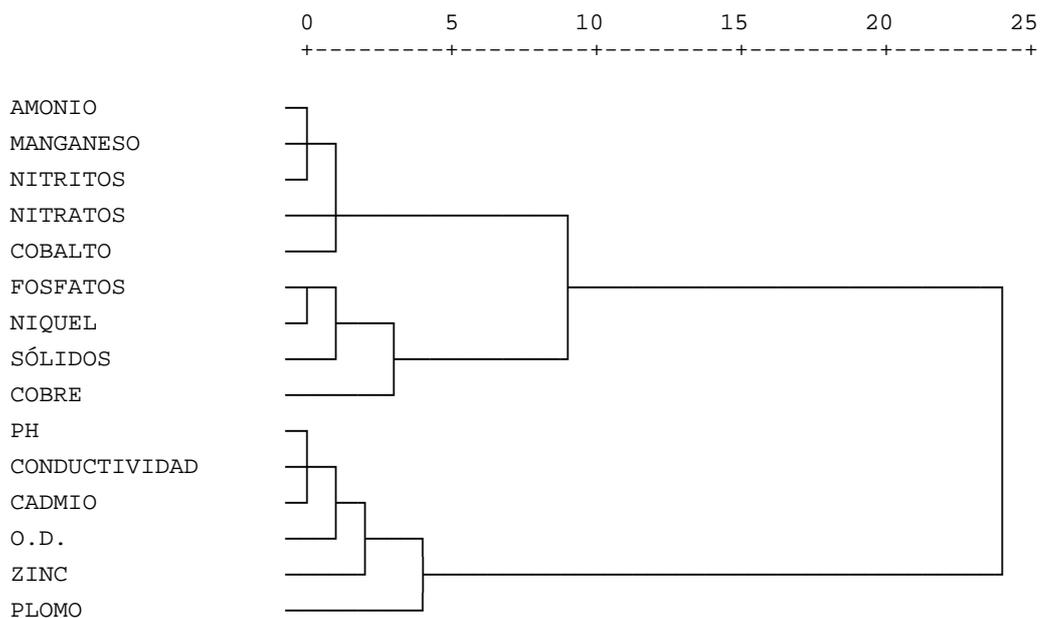


Figura III.42. Dendrograma construido con el método de Ward.

En primer lugar, destacan dos grandes clusters que separan aquellas variables que han sido relacionadas mediante los componentes principales con una fuente de origen antropogénico, tanto urbana como agrícola, de aquellas que se encontraron controladas principalmente por la mezcla de aguas. Dependiendo del método de

vinculación elegido, el cobre y el plomo cambian su posición en estos dos grupos. Esto se relaciona con el hecho de que el plomo no se encuentra vinculado a ninguna de estas fuentes, tal y como se vio durante el análisis de componentes principales, y el cobre presenta ambas características, por lo que se encuentra próximo a ambos grupos de variables. Ya en los gráficos de puntuaciones y cargas del análisis de componentes principales (figura III.37 y figura III.38) se observó que presenta una alta carga sobre el segundo componente (agrícola) y negativa sobre el primero, acercándose a los parámetros controlados por la mezcla de aguas. Aparte de esta diferencia, el resto de grupos que se forman resultan idénticos en ambos casos.

Amonio, manganeso y nitritos forman un grupo, indicando que se encuentran fuertemente relacionados. Como ya se había visto, estas variables son las que más intensamente se ven afectadas por los vertidos urbanos, al igual que nitratos y cobalto aunque en menor grado, por lo que aparecen más próximos al grupo de fosfatos, níquel y sólidos en suspensión. Estas tres variables ya se relacionaron en el análisis de componentes principales con un origen común, las actividades agrícolas, lo que explicaría su agrupamiento.

Finalmente se agrupan pH, conductividad y cadmio, que son las variables que mayor dependencia muestran con la mezcla de aguas fluviales y marinas, y de forma más débil el oxígeno disuelto. El zinc, aunque aislado, se relaciona también con ellas del mismo modo que en el análisis de componentes principales presentaba un comportamiento mixto entre el del cobre y el del plomo.

Una vez realizado el estudio estadístico y a modo de resumen se pueden extraer las siguientes conclusiones particulares.

1. El tramo del río Guadalquivir objeto de estudio puede dividirse en cuatro zonas dependiendo de la calidad de las aguas y del origen de la contaminación.
 - Zona 1: desde Alcalá del Río hasta Sevilla (Estaciones G1-G5). En esta zona la calidad de las aguas está determinada principalmente por las actividades urbanas, aunque en menor medida que en la zona 2.
 - Zona 2: la ciudad de Sevilla (estaciones G6-G7). En esta zona la calidad de las aguas se encuentra determinada principalmente por las actividades

- urbanas de la ciudad de Sevilla, con altos contenidos en amonio y nitritos y en metales como el cobalto y manganeso.
- Zona 3: desde Puebla del Río hasta el caño Brenes (G9-G12). La calidad de las aguas en esta zona se encuentra dominada principalmente por las actividades agrícolas. Presenta altos contenidos en sólidos en suspensión procedentes de las escorrentías agrícolas, así como de fosfatos y níquel.
 - Zona 4: desde el caño Brenes hasta la desembocadura. Esta zona corresponde con el cambio en la salinidad de las aguas, y esto determina en gran medida sus características.
2. El comportamiento de las variables medidas en las aguas del río Guadalquivir se encuentra determinado principalmente por tres factores, las actividades urbanas, las actividades agrícolas y la mezcla de aguas en el estuario.
 3. Las variables determinadas en las aguas del río Guadalquivir se agrupan dependiendo de su origen y de las actividades que controlan sus concentraciones. De este modo los contenidos de amonio, nitritos, manganeso y cobalto se encuentran controlados principalmente por las actividades urbanas mientras que las actividades agrícolas ejercen el control sobre las concentraciones de fosfatos y sólidos en suspensión. En el caso de níquel y nitratos ambos tipos de actividad ejercen su influencia, aunque para el primero de ellos la fuente es predominantemente agrícola y para el segundo urbana, mientras que para el cobre junto a la existencia de una fuente de origen agrícola se encuentra un aporte debido a la entrada de las aguas marinas. Este último factor, la entrada de agua de mar, es el que controla los contenidos de cadmio y la conductividad en las aguas del río Guadalquivir, al igual que el pH y el oxígeno disuelto, aunque para estos dos últimos la influencia del agua de mar entrante se relaciona con la recuperación del descenso producido por la entrada de aguas residuales urbanas.
 4. El plomo presentó un comportamiento único, no pudiendo relacionarlo claramente con ninguna de las fuentes citadas anteriormente.
 5. El zinc presentó un comportamiento mixto entre el exhibido por el plomo y el cobre, por lo que no se ha agrupado en ninguno de los expuestos.

(página en blanco intencionadamente)

CAPÍTULO IV.

DESARROLLO DE NUEVA METODOLOGÍA PARA ANÁLISIS DE METALES EN AGUA DE MAR

Como se ha comentado anteriormente, la determinación de elementos traza en aguas naturales resulta especialmente compleja debido a las bajas concentraciones a las que estos elementos se presentan y, especialmente en el caso del agua de mar, a la complejidad de la matriz. En muchos casos el análisis de elementos traza en agua de mar requiere de un paso previo de separación y/o preconcentración que consiga al mismo tiempo aislar el analito en una matriz simple y aumentar su concentración. Aunque en la actualidad se están realizando numerosos esfuerzos para el desarrollo de tecnologías que permitan prescindir de este paso de preconcentración previo, lo cierto es que estas técnicas no son accesibles a gran parte de la comunidad científica debido a su alto coste económico. Por este motivo es particularmente interesante la búsqueda de nuevos métodos de separación y preconcentración de elementos traza en agua de mar que permita su determinación mediante equipos analíticos más asequibles, como la espectrofotometría o la espectroscopía de absorción atómica con llama.

En la actualidad existe una amplia variedad de técnicas para llevar a cabo una etapa de preconcentración previa al análisis, tal y como se ha mostrado en la introducción del presente trabajo, siendo de las más empleada el intercambio iónico o la extracción líquido-líquido. El uso de membranas líquidas es una alternativa relativamente nueva que permite llevar a cabo el proceso de extracción líquido-líquido y

la posterior re-extracción de forma simultánea. Pero aunque este tipo de métodos se ha utilizado para conseguir separar una gran variedad de especies químicas en el terreno de la hidrometalurgia (Dolezal y col., 2000) o en el desarrollo de electrodos selectivos (Florido y col., 1994), su aplicación en el terreno del análisis ambiental es más escaso. Además, hasta el momento no se había llevado a cabo su aplicación para realizar la preconcentración de elementos traza en agua de mar.

A continuación se comenta brevemente el funcionamiento de los sistemas de preconcentración basados en el uso de membranas líquidas, así como los tipos de membranas existentes y los trabajos más recientes que han sido llevados a cabo mediante estos sistemas. Finalmente se presentarán los estudios realizados para el desarrollo y optimización de un nuevo método de preconcentración de metales en agua de mar mediante el uso de membranas líquidas así como su aplicación a muestras reales.

MEMBRANAS LÍQUIDAS: FUNDAMENTOS Y APLICACIONES

Una membrana es, en general, una barrera semipermeable entre dos fases que permite el paso a través de ella de diversos compuestos, más o menos selectivamente. A este respecto, es importante señalar que una membrana se define y estudia en base a la función que tiene y no al material que se usa para su fabricación. En el caso de membranas líquidas esta barrera está constituida por una fase líquida que separa dos disoluciones inmiscibles con ella, y a través de la cual se produce el transporte de alguna especie química. La disolución donde se encuentra inicialmente la especie que se quiere transportar se denomina disolución cargada, y la disolución de destino se denomina disolución receptora. Aunque no siempre, el caso más habitual es aquel en el que la membrana líquida está formada por una disolución orgánica, mientras que las disoluciones cargada y receptora son sendas fases acuosas.

El transporte a través de la membrana líquida puede llevarse a cabo de distintos modos, pudiéndose diferenciar básicamente aquellos mecanismos basados en la solubilidad del soluto en la membrana (permeación) y los que utilizan un agente extractante para realizar el transporte (transporte asistido). A continuación se describen

los mecanismos básicos de transporte a través de una membrana líquida, los cuales se muestran de forma esquemática en la figura IV.1 (Schlosser, 1993).

- Permeación

- a. Permeación Simple: el soluto, P, pasa a través de la membrana gracias a su solubilidad en ella. El transporte se detiene cuando se alcanza una concentración de equilibrio.
- b. Permeación con reacción química en la disolución receptora: la selectividad de la separación y la capacidad de la disolución receptora pueden aumentar si se produce una reacción del soluto con esta disolución, especialmente si el producto de esta reacción, PH^+ , es insoluble en la membrana líquida.

- Transporte asistido

- c. Transporte Facilitado: un agente extractante es disuelto en la membrana y reacciona reversiblemente con el soluto, lo cual permite acelerar el transporte. Además, simultáneamente puede producirse la permeación simple del soluto.
- d. Contratransporte Acoplado: la especie de interés reacciona con el extractante, EH, formando un complejo que difunde a través de la membrana hasta contactar con la disolución receptora, donde se produce la reacción inversa. Para ello es necesario que en la disolución receptora exista una especie química que reaccione con el complejo liberando la especie de interés.
- e. Cotransporte acoplado: en este caso se produce el transporte de la especie de interés junto con otra especie química presente en la disolución cargada.
- f. Transporte primario activo: se facilita además mediante reacciones de oxidación-reducción en la superficie de la membrana.

El uso de transportadores en las membranas líquidas presenta varias ventajas, entre las que destacan (Noble y Way, 1987):

- Es posible alcanzar mayores flujos de materia.
- Es posible realizar separaciones muy selectivas. La naturaleza selectiva del transportador permite obtener mejores separaciones que aquellas basadas sólo en la solubilidad y difusión de la especie química de interés.
- Los iones pueden ser concentrados, ya que el transporte acoplado permite el paso de iones en contra a su gradiente de concentración.

- Pueden usarse extractantes caros o de difícil obtención, ya que se utilizan volúmenes muy pequeños.

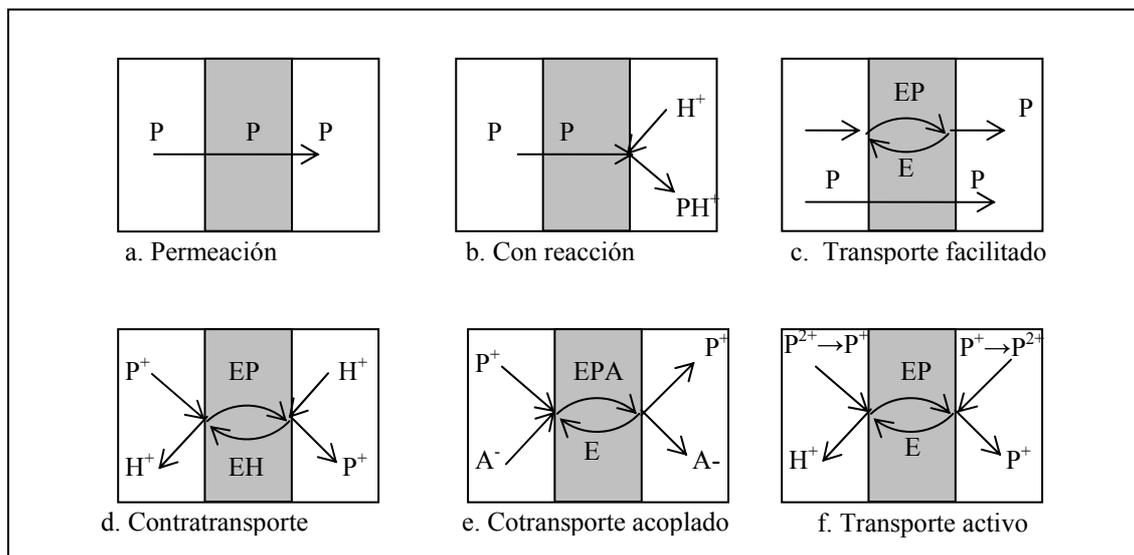


Figura IV.1. Mecanismos de transporte en membranas líquidas.

Es por esta razón que la mayor parte de los trabajos realizados con membranas líquidas utilizan el transporte facilitado. Esto requiere la realización de un exhaustivo estudio químico del funcionamiento del sistema que permita establecer cuáles son las variables de las que depende el transporte para conseguir que éste sea óptimo. Entre estas variables se puede citar el tipo de extractante utilizado, el disolvente en el que se encuentra y su concentración, composición de las fases cargada y receptora, etc. De todo ello se hablará más detalladamente en un apartado posterior.

Tipos de membranas líquidas

Según su configuración las membranas líquidas pueden clasificarse en tres grandes grupos: membranas líquidas de volumen (MLV), membranas líquidas soportadas (MLS) y membranas líquidas de emulsión (MLE) (Bartsch y Way, 1996; Peterson y Lamb, 1996).

a. Membranas líquidas de volumen

En este tipo de membranas se utiliza un volumen considerable de fase orgánica (B) que separa la disolución cargada (A) y la receptora (C), estableciendo el contacto

entre ellas. Se han utilizado distintos tipos de celdas para construir este tipo de membranas, alguna de las cuales se muestran en la figura IV.2, existiendo alternativas para disolventes orgánicos de mayor densidad que el agua (I y II) o de menor (III).

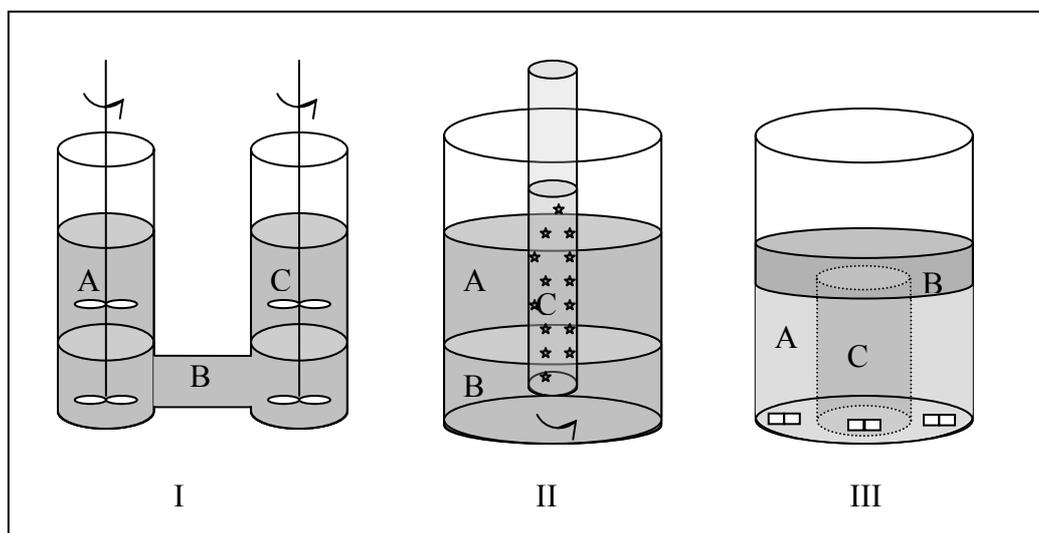


Figura IV.2. Distintos tipos de celdas utilizadas para membranas líquidas de volumen.

La principal ventaja de este tipo de configuración es que se trata de sistemas muy simples, aunque debido a la anchura de la membrana la velocidad de transporte de la especie de interés es relativamente baja. Esta configuración se utiliza mucho en el estudio de los mecanismos de transporte y el establecimiento de las condiciones químicas que permitan un transporte óptimo en términos de eficiencia y selectividad. Es el caso del trabajo de Brinchi y col. (2002), en el que estudiaron la capacidad de las poliaminas lipofílicas de transportar iones cúpricos mediante el uso de varias membranas de volumen. Del mismo modo Pike y col. (2001) utilizan las membranas de volumen para estudiar el mecanismo de transporte de la serotonina y triptofano cuando se utiliza como fase orgánica diversos éteres disueltos en cloroformo, y Safavi y col. (2002) estudian las condiciones óptimas para realizar el transporte de cobre a través de una membrana líquida de volumen formada por cloroformo con Janus Green como agente extractante, consiguiendo una eficiencia del 97 % después de tres horas,

Por otro lado, este tipo de membranas también se han aplicado como paso previo de preconcentración y/o separación cuando el elemento se encontraba presente en bajas concentraciones o la matriz de la muestra interfería en su determinación. En este sentido

Granado-Castro y col. (2004) utilizan un sistema de membranas líquidas de volumen para preconcentrar el cadmio presente en muestras de agua de mar antes de su determinación mediante espectroscopía de absorción atómica de llama, obteniendo un transporte total después de siete horas.

b. Membranas líquidas soportadas

Este tipo de membranas pueden presentar diferentes configuraciones entre las que destacan las de geometría plana o laminares y los capilares de fibra hueca, ambos representados esquemáticamente en la figura IV.3.

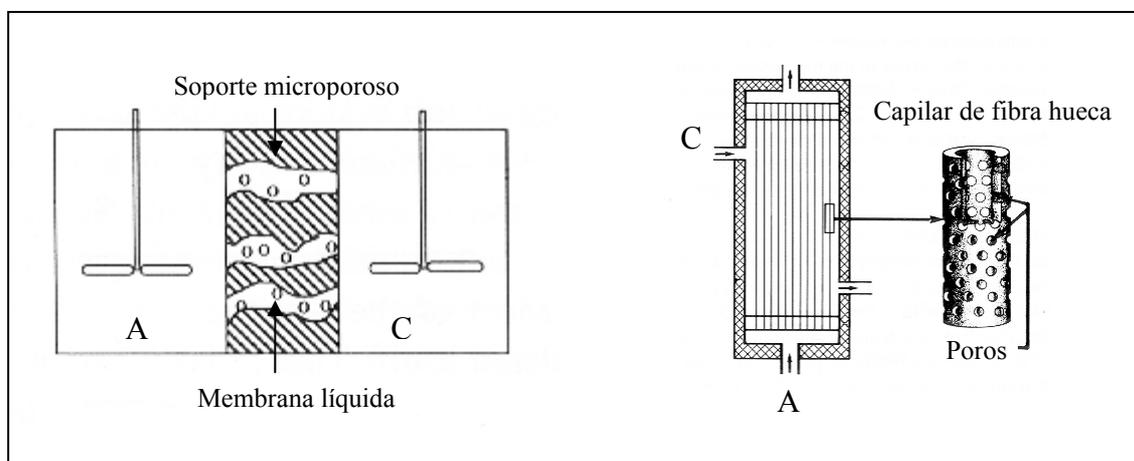


Figura IV.3. Esquema de una membrana líquida soportada con geometría laminar y capilar de fibra hueca. (A) Disolución cargada; (C) Disolución receptora.

Las membranas soportadas de tipo laminar están constituidas por una lámina de un material polimérico microporoso que se sitúa entre las disoluciones cargada y receptora. Previamente los poros de dicha lámina han sido impregnados con un disolvente orgánico que actúa como membrana líquida permitiendo el transporte de la especie de interés entre las dos fases acuosas. Este tipo de sistemas han sido utilizados para la extracción de cadmio de muestras de agua con alto contenido en fosfatos, con la posibilidad de utilizarlo para el control de la contaminación producida por aguas residuales de estas características (Daoud y col., 1998). También Campderrós y Marchese (1997) usaron esta configuración para estudiar el transporte de cobre, níquel y cobalto a través de una membrana líquida formada por DEHPA en keroseno y la

influencia que el pH de las disoluciones acuosas ejercía sobre dicho transporte, consiguiendo una recuperación mayor del 90 % para estos metales.

En el caso de los capilares de fibra hueca se trata de tubos de material polimérico microporoso que, al igual que en el caso de la configuración laminar, son impregnados por la disolución orgánica. Lo más habitual es que la disolución cargada pase por el interior del tubo mientras que por el exterior circula la disolución receptora. Algún ejemplo del uso de este tipo de configuración se puede encontrar en el trabajo de Djane y col. (1999), quienes la aplican para la especiación de cromo en aguas naturales consiguiendo un transporte del 90% para Cr(III) y del 40% para Cr(IV) con un límite de detección de $0,01 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. De igual modo, Chimuka y col. (2003) utilizan este tipo de membranas para la extracción selectiva de uranio de aguas naturales, consiguiendo límites de detección de $0,5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ después de una hora de extracción.

Este tipo de sistemas posee la ventaja de utilizar una membrana líquida muy fina, lo que acelera el transporte y permite la utilización de muy poca cantidad de disolvente orgánico. Sin embargo, el contacto con las fases acuosas puede causar pérdidas de la fase orgánica del interior de los poros, pudiendo llegar a perderse por completo, entrando así en contacto las dos disoluciones acuosas. Debido a ello resulta conveniente que tanto disolvente como transportador presenten alta hidrofobicidad. No obstante, el uso de una membrana muy hidrófoba puede ofrecer una mayor resistencia al transporte, tal y como describen Soldenhoff y McCulloch (2002) para la extracción de neodimio de una disolución de ácido nítrico mediante una mezcla de distintos extractantes.

Otra de las ventajas que presentan las membranas líquidas soportadas es su relativa facilidad de ser acopladas a sistemas automáticos. En este sentido Sandah y col. (2002) han desarrollado un sistema automático para la determinación de compuestos polares y no polares a nivel de trazas en aguas naturales. En este sistema se utilizan dos unidades de membranas paralelas, una de las cuales es una membrana soportada, acopladas a una cromatógrafo para la determinación de un tipo de fungicida y alguno de sus metabolitos polares.

Uno de los inconvenientes principales consiste en las bajas tasas de transporte global que se obtienen derivados de su inestabilidad, como consecuencia de la pérdida de la fase orgánica de los poros. Para minimizar estas pérdidas se han hecho diversos

ensayos, como por ejemplo la utilización de geles (Kemperman y col., 1997) o de sistemas de dos haces de capilar de fibra hueca, en la forma en que se representa en la figura IV.4, en los que el disolvente además de hallarse en los poros de la membrana se encuentra en un volumen mayor, en el que se sumergen estos sistemas de capilares, garantizando así la presencia de fase orgánica en el interior de los poros. Como puede observarse en la figura, por el interior de cada haz de capilares, circula una de las dos disoluciones acuosas. Este tipo de membranas mejora la estabilidad y evita que se produzcan pérdidas del disolvente, permitiendo la manipulación de la membrana líquida durante los experimentos. Como contrapartida, el mayor volumen de fase orgánica produce una menor velocidad de transporte. Schlosser y Sabolova (2002) utilizan esta configuración para estudiar el transporte del ácido dimetilciclopropanocarboxílico y de fenol a través de una membrana líquida con diferentes tipos de extractantes.

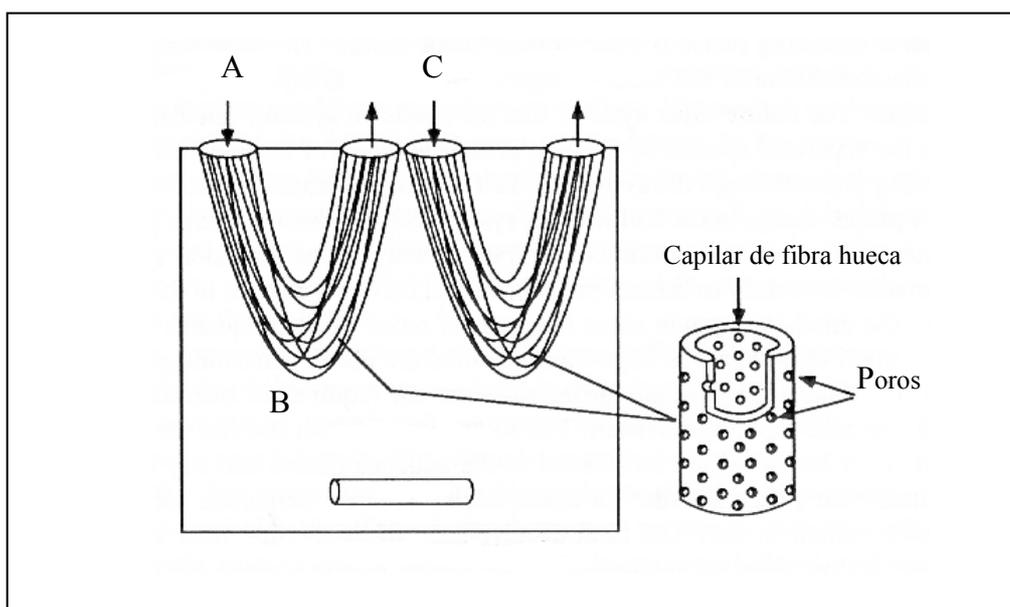


Figura IV.4. Esquema de membrana líquida con dos haces de capilares de fibra hueca.

c. Membranas líquidas de emulsión

Este tipo de membranas se prepara dispersando una fase líquida receptora en un líquido inmiscible, que constituye la membrana, para formar una emulsión. Un esquema simplificado de este tipo de membranas se muestra en la figura IV.5. La emulsión puede ser estabilizada mediante la adición de un agente tensioactivo. Esta emulsión es agitada

posteriormente en una disolución acuosa donde se encuentra la especie de interés. La transferencia de masas tiene lugar entre la fase acuosa externa y la fase acuosa interna a través de la fase orgánica.

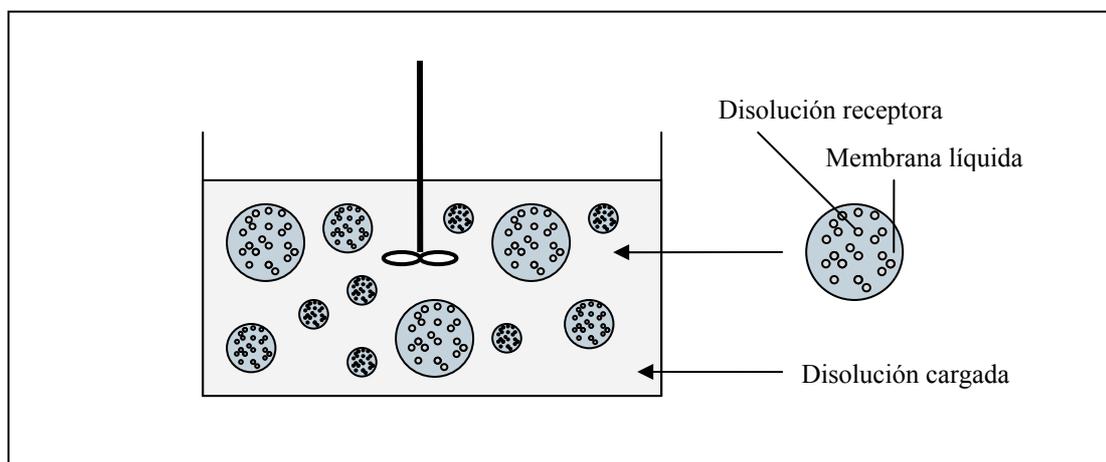


Figura IV.5. Esquema de membrana líquida de emulsión.

La ventaja de este tipo de membranas consiste en la gran superficie que presentan y su escaso grosor, lo que implica tasas de transporte más altas. Al mismo tiempo la elevada relación de volúmenes entre las fases acuosas permite obtener un alto grado de concentración. El mayor problema que presentan se relaciona con su estabilidad así como con la necesidad de romper la emulsión para recuperar la fase receptora una vez que se ha completado el transporte.

Wang y col. (1994) utilizaron este tipo de configuración para la concentración de paladio a partir de una disolución acuosa, consiguiendo recuperaciones del 96%. La membrana consistía básicamente en una mezcla de un extractante (tri-n-octilamina), y agente tensioactivo (monobutanodiimida), y estabilizada mediante la adición de parafina mezclada con una disolución de amonio al 11% para formar la emulsión.

Variables que determinan el transporte a través de una membrana líquida

Como ya se ha comentado, es muy importante conocer los mecanismos de transporte a través de una membrana líquida para llevar a cabo su optimización, de modo que pueda obtenerse el máximo rendimiento del sistema. La mayor parte de los sistemas de separación basados en el uso de membranas líquidas precisan de una

agitación o un flujo continuo de las dos disoluciones acuosas. A pesar de ello, siempre se conserva una fina capa inmóvil en la interfase entre las disoluciones acuosas y la orgánica, denominada capa de difusión, debido a que el transporte de masas en ella sólo puede ocurrir mediante procesos de difusión. Así pues el transporte de un elemento a través de una membrana líquida va a depender tanto de ese paso de difusión como de la reacción química entre el compuesto a transportar y el agente transportador (Peterson y Lamb, 1996). Dependiendo del sistema y del elemento transportado el paso que limita el transporte puede ser uno u otro. Así, Zhang y Gozzelino (2003) concluyeron que el transporte de Fe(III) a través de una membrana soportada formada por dodecanol y DEHPA estaba limitado por el paso de difusión del complejo Fe-DEHPA a través de la fase orgánica, mientras que para el Cu(II) el factor limitante era la reacción con el transportador en la interfase.

Por otro lado, el transporte a través de una membrana líquida dependerá también del tipo de disolvente utilizado, de la naturaleza del analito que se quiere separar, de las características de las disoluciones que intervienen en el mecanismo y del agente transportador que se utilice, así como de las condiciones hidrodinámicas del sistema. Por esta razón es habitual encontrar multitud de trabajos enfocados al estudio de los mecanismos implicados en el transporte de distintas especies químicas a través de una membrana líquida. Este tipo de estudios son necesarios antes de intentar aplicar un determinado sistema a muestras reales.

Debido al gran número de estudios que existen sobre los mecanismos de transporte de muchos sistemas distintos de membranas líquidas sólo se citarán algunos de los más recientes, principalmente aquellos en los que se realizan extracciones de elementos traza de disoluciones acuosas por ser éste el objetivo del presente trabajo.

En este sentido, Valenzuela y col. (2003) estudiaron el transporte de iones Cu(II) a través de una membrana soportada, comprobando que la presencia de un agente tensioactivo aumentaba la permeabilidad del metal. También para el transporte de cobre, Brinchi y col. (2002) presentaron la aplicación de poliaminas lipofílicas estructuralmente simples como transportadores en una membrana líquida de volumen, y Lin y Juang (2002) estudiaron un complejo sistema para transporte de iones de cobre y su complejo con el ácido etilendiamino tetraacético (EDTA) presentes en agua a través de un capilar de fibra hueca impregnado por una disolución orgánica que contenía una

mezcla de dos agentes extractantes (LIX64N y Aliquat 336). Estos autores comprobaron que la tasa de extracción aumentaba cuando se disminuía el flujo de la disolución cargada, mientras que la variación del flujo de la disolución receptora y de la orgánica no producía efectos importantes.

En numerosas ocasiones se buscan extractantes selectivos para un determinado elemento. Este es el caso del trabajo de Safavi y Shams (1998) que realizaron el transporte selectivo de mercurio a través de una membrana de 1,2-dicloroetano con rojo metileno como transportador, o el de Rezvanianzadeh y col. (2000) que consiguieron transportar molibdeno selectivamente a través de una membrana líquida de volumen. En otros trabajos lo interesante es realizar extracciones simultáneas de distintos elementos, como Gumí y col. (2000) que utilizaron una membrana soportada con DEHPA como agente transportador para realizar la extracción simultánea de cadmio y plomo. Con este mismo agente transportador en un sistema de membrana soportada de tipo laminar, Malcus y col. (1996) consiguieron extraer simultáneamente cobre, cadmio y aluminio con un factor de enriquecimiento próximo a 10 después de 30 minutos de extracción.

Además de esto, hay que tener en cuenta que el transporte facilitado de un elemento a través de una membrana líquida precisa en muchos casos de la existencia de un contratransporte de otro elemento que permita regenerar el transportador. Son muchos los casos en los que este contratransporte es realizado por medio de iones H^+ , por lo que es necesaria la existencia de una diferencia de pH entre la disolución cargada y la receptora. Por esta razón muchos de los trabajos destinados a la optimización de los sistemas de membranas líquidas buscan cuál es la acidez óptima de ambas disoluciones acuosas, así como la necesidad de utilizar una disolución tampón en la fase cargada para evitar un cambio de pH al recibir los H^+ que intervienen en el transporte. Por citar algún ejemplo de este tipo de trabajos experimentales, Djane y col. (1997) señalaron que era necesario mantener una diferencia de pH de 2 unidades entre las disoluciones cargada y receptora para mantener un flujo constante de cobre, plomo y cadmio a través de una membrana soportada formada por DEHPA disuelto en keroseno. Del mismo modo Gholivand y Khorsandipoor (2000) estudiaron la influencia de la acidez de las dos disoluciones acuosas en el transporte de cobre a través de una membrana formada por cloroformo y un ácido carboxílico como transportador. En este caso los mejores resultados se obtuvieron para un pH de 8 en la fase cargada y de 1,5 en la fase receptora,

aunque por debajo de un pH 2 en la receptora ya no se observaban cambios en la permeabilidad al variar el pH.

Como se puede concluir a partir de los trabajos citados anteriormente, cada sistema de membranas posee unas características diferentes, por lo que es preciso realizar un estudio exhaustivo de los variables que intervienen en el transporte en cada caso particular. Pero no hay que olvidar que este tipo de trabajos deben considerarse como un paso previo a la aplicación del sistema a muestras reales, ya que aún son numerosos los sistemas que no han demostrado su posibilidad real de aplicación.

Aplicaciones de las membranas líquidas

Las membranas líquidas han sido utilizadas para realizar separaciones de muy diversa naturaleza, como por ejemplo compuestos gaseosos (Teramoto y col., 2001), recuperaciones de metales tóxicos (Ho y col., 2002) y de compuestos orgánicos (Eyal y Bressler, 1993), desalinización de aguas (Naim y Monir, 2003), etc. Dentro de esta gran variedad de aplicaciones, se han cubierto campos como la química orgánica e inorgánica, la analítica, la ingeniería química y biomédica o la biotecnología.

Se ha demostrado su utilidad en la modelación de los mecanismos de transporte que tienen lugar en las membranas biológicas (Ghosh, 2001) y en la determinación de varias drogas en el plasma humano (Shen y col., 1998; Palmarsdottir y col., 1997; Lindegard y col. 1994). También han sido ampliamente utilizadas para la eliminación de diferentes compuestos en aguas residuales industriales. Este es el caso del trabajo de Kocherginsky y col. (2002), quienes desarrollaron un método basado en el uso de membranas líquidas de volumen para la eliminación de estroncio radiactivo de las aguas residuales de una industria nuclear. Del mismo modo, Ho y col. (2001) demostraron la efectividad de las membranas líquidas soportadas para la recuperación del cobre, zinc y níquel presentes en aguas residuales industriales, y Taylor y col. (1992) realizaron la extracción de oro de residuos con alto contenido en cianuros procedentes de la minería.

Eyal y Bressler (1993) señalaron su particular interés en distintas aplicaciones industriales para la recuperación de ácidos carboxílicos y aminoácidos. Para estos autores las ventajas que presentan las membranas líquidas en la industria son numerosas, incluyendo el aumento de selectividad respecto a otros métodos de

separación, un menor coste energético en la separación y concentración, mayores flujos, una compacta instalación y unos costes bajos de operación.

Se han desarrollado también multitud de aplicaciones de las membranas líquidas en el campo de la química analítica, especialmente para la determinación de varios compuestos en los distintos compartimentos ambientales. Su interés en este campo procede de la posibilidad de eliminar las complejas matrices ambientales donde se encuentra el analito de interés y de la posibilidad de realizar simultáneamente un paso de preconcentración. Por esta razón diversos estudios se han enfocado a la determinación de distintos compuestos en las aguas naturales. En este sentido Sandah y col. (2002) presentaron un método para la determinación de compuestos polares y no polares presentes en aguas naturales a nivel de traza. Este método basado en el uso de membranas líquidas soportadas acopladas a un cromatógrafo presentaba además la ventaja de ser automático. Por otro lado, Parthasarathy y col. (1999) indicaron la posibilidad de aplicar las membranas líquidas soportadas a la especiación de cobre en las aguas naturales, determinando concentraciones muy bajas del metal y consiguiendo transportar selectivamente el ión libre.

Algunos autores han desarrollado distintos métodos con membranas líquidas para determinar herbicidas en aguas naturales. Es el caso de Trocewicz (1996), que consiguió realizar la extracción y enriquecimiento de triacina mediante una membrana líquida soportada acoplada a un cromatógrafo líquido. Otros sistemas similares han sido desarrollados por Chimuka y col. (1997), Megersa y col. (1999) y Nilve y col. (1994). Por otro lado Knutsson y col. (1992) utilizaron un método con membranas líquidas soportadas para realizar un muestreo en continuo de herbicidas ácidos en aguas, de modo que al mismo tiempo que se realiza la toma de muestras se produce la eliminación de la matriz.

En el caso del análisis de elementos traza en aguas naturales, en la actualidad aún son pocos los trabajos en los que se realiza su aplicación a muestras reales, especialmente en el caso de aguas salinas. Sí se pueden citar algunos trabajos realizados en aguas de ríos o lagos, como es el caso del trabajo de Djane y col. (1997). Estos autores consiguieron determinar cobre, cadmio y plomo en muestras fluviales después de realizar una extracción mediante una membrana líquida soportada utilizando como transportador el DEHPA. También N'dungu y col. (1998) desarrollaron un método para

determinar zinc, cobre y cobalto en agua de río utilizando una membrana líquida del mismo tipo, y Parthasarathy y Buffle (1994) estudiaron la extracción de cobre mediante una membrana líquida que contenía un ácido graso en una mezcla de tolueno y fenilhexano y lo aplicaron a la determinación de este metal en aguas no salinas.

Como puede observarse de esta breve recopilación de trabajos sobre las aplicaciones de las membranas líquidas, se trata de un sistema con múltiples posibilidades. Aunque son numerosos los trabajos realizados con ellas aún existen muchos campos en los que su desarrollo ha sido escaso. Este es el caso, como ya se ha mencionado, de las determinaciones de metales en aguas salinas, donde la aplicación de las membranas líquidas tendría un gran interés para realizar los pasos de separación y preconcentración anteriores al análisis. En el presente trabajo se ha profundizado en el estudio de este campo desarrollando un método basado en el uso de membranas líquidas de volumen que permite la preconcentración de cobre en aguas salinas y su determinación mediante un equipo de absorción atómica con llama. Además se ha estudiado la posibilidad de utilizar dicho sistema para la preconcentración simultánea de otros metales presentes en el agua de mar. A continuación se expone el desarrollo experimental que se ha seguido para la optimización de dicho método y su aplicación a muestras reales de agua de mar.

DESARROLLO EXPERIMENTAL

A continuación se describen los trabajos experimentales realizados para establecer un método de preconcentración de cobre en agua de mar basado en el uso de membranas líquidas. En primer lugar se presenta el sistema de membranas utilizado, tanto desde el punto de vista físico como químico. Posteriormente se expondrán las condiciones experimentales que influyen en el transporte del metal a través de la membrana, describiendo detalladamente los experimentos realizados para conseguir el mayor porcentaje de extracción posible. Dichos experimentos de optimización se llevaron a cabo sobre dos sistemas distintos los cuales poseían distintos factores de preconcentración, y por lo tanto pueden ser aplicados a muestras con diferente concentración de cobre. En dichos sistemas se ensayaron igualmente diferentes métodos

de optimización, utilizándose el método univariante y el simplex modificado respectivamente.

Finalmente se estudió la aplicabilidad del sistema optimizado a la simultánea preconcentración de varios metales, aplicándose el sistema a la determinación de metales en muestras reales de agua de mar. Evidentemente, el desarrollo de cualquier nueva metodología debe implicar una mejora en algún aspecto de la ya existente. En este caso, nos hemos propuesto, por un lado, realizar la etapa de cuantificación mediante una técnica analítica sencilla y de fácil acceso, como la espectroscopía de absorción atómica de llama, cuya aplicación al análisis directo de agua de mar resulta muy compleja, y por otro lado, realizar las etapas de extracción y reextracción de un modo simultáneo y rápido.

Descripción del sistema

De los tipos de membranas líquidas existentes se utilizó una membrana líquida de volumen ya que, gracias a su simplicidad, este tipo de configuración es muy adecuada para establecer las variables óptimas de transporte a escala de laboratorio. El tipo de celda utilizado consistió básicamente en dos vasos de vidrio concéntricos tal y como se muestran en la figura IV.6.

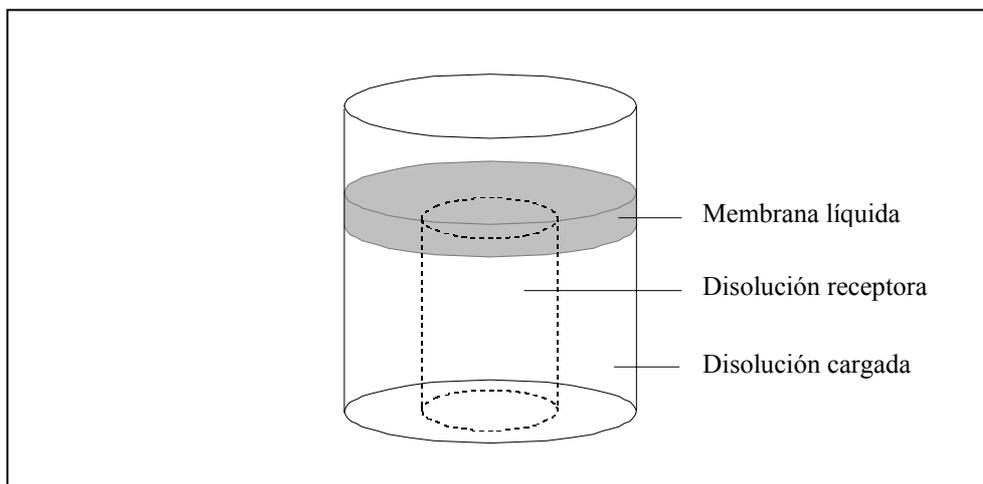


Figura IV.6. Tipo de celda usada para la membrana líquida de volumen.

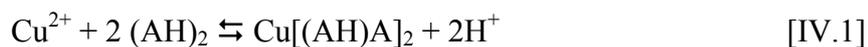
En el vaso interno se deposita la disolución receptora, y en el externo se encuentra la disolución cargada la cual contiene al cobre inicialmente. Sobre ambas disoluciones se encuentra la fase orgánica a través de la que se realiza el transporte y

que constituye la membrana propiamente dicha. En este trabajo se utilizaron dos celdas con idéntica forma pero con distintas dimensiones, de modo que se obtenían diferentes factores de concentración.

La primera celda que se usó, durante el proceso de optimización univariante, tenía un diámetro de 1,5 cm en el vaso interno y el externo de 2,5 cm, con un volumen de disolución cargada de 40 mL y de disolución receptora de 24,7 mL. Esta celda posee una razón de volúmenes de 1,65, y se utilizó en la optimización univariante del sistema, así como para el análisis de algunas muestras reales de alto contenido en cobre. Posteriormente se utilizó una segunda celda de dimensiones más reducidas, con un diámetro de 1,7 cm en el vaso interno y de 4,4 cm en el externo, de modo que se podía utilizar un volumen de 48 mL de la disolución cargada y 8,5 mL de la disolución receptora, consiguiendo así una razón de volúmenes de 5,65. Esta celda se utilizó para la optimización vía simplex modificado, así como para el análisis de muestras reales de bajo contenido en cobre.

Para facilitar el transporte se utilizó la menor cantidad de fase orgánica posible, que en ambos casos fue de 7 mL. Esta fase orgánica estaba formada por keroseno, cuya densidad menor que la del agua permitía que sobrenadara ambas disoluciones acuosas, y que permitía la disolución del agente extractante utilizado en este trabajo, el ácido di(2-etilhexil) fosfórico (DEHPA), que ha demostrado su capacidad como transportador de metales en numerosos trabajos (Kocherginsky y col., 2002; Ortiz y San Roman, 2002; Oleinikova y Muñoz, 2000) y ya ha sido usado con éxito para transportar cobre en diferentes matrices a través de una membrana líquida (Chakraborty y col., 2003; Zhang y Gozzelino, 2003).

El funcionamiento químico del sistema se basa fundamentalmente en la reacción:



donde AH representa al agente extractante, que en disolución se encuentra en forma dimerizada. En este caso la fuerza impulsora que hace posible el transporte de iones cobre entre las disoluciones acuosas es el gradiente de pH. Como se puede observar esquemáticamente en la figura IV.7, el mecanismo consiste en un contratransporte

acoplado en el que la especie de interés, en este caso el cobre, reacciona con el extractante formando un complejo que difunde a través de la membrana. Cuando este complejo alcanza la fase receptora se produce la reacción inversa debido a la mayor acidez de la misma, de modo que se liberan iones cobre. Estos iones son sustituidos por iones hidrógeno, presentes en la fase receptora, de forma que se produce la regeneración del agente extractante. Así pues, para que se produzca el transporte debe existir un gradiente de pH entre ambas fases acuosas suficientemente alto. En este caso dicho gradiente se conseguía utilizando ácido nítrico como disolución receptora, y fijando el pH de la disolución cargada. Hay que tener en cuenta además, que el transporte de protones a la disolución cargada puede cambiar su acidez modificando el gradiente de pH y por tanto el transporte. Por esta razón es necesario considerar la posibilidad de usar una disolución reguladora que controle el pH de la disolución cargada durante el transporte. En este trabajo se estudió la aplicación de un tampón acético/acetato como disolución reguladora, debido a los intervalos de acidez a los que se forma el complejo Cu-DEHPA.

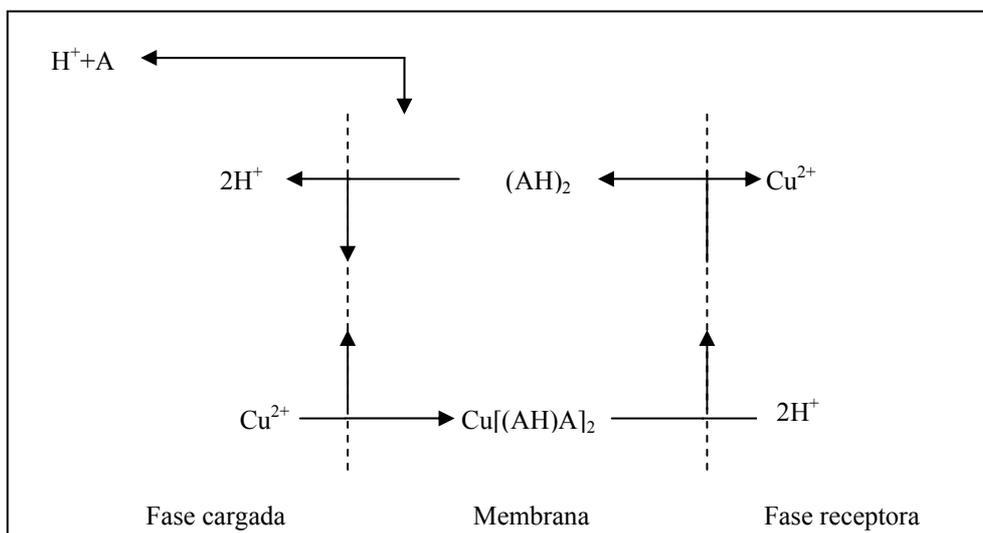


Figura IV.7. Mecanismo de transporte de cobre a través de la membrana líquida.

Así pues, considerando la reacción implicada en el sistema y el mecanismo de transporte presentado, se puede considerar que dicho transporte va a depender principalmente de las siguientes variables químicas:

- pH de la fase receptora

- pH de la fase cargada
- concentración de la disolución reguladora en la fase cargada
- concentración de DEHPA en la membrana

Por último no hay que olvidar la influencia que las condiciones hidrodinámicas del sistema tienen sobre el transporte a través de la membrana. Como en todo proceso de extracción, una buena agitación de las dos fases facilitará los fenómenos de transporte implicados. Una buena agitación maximiza la convección en las tres disoluciones utilizadas, haciendo de este modo que el paso limitante del transporte sea la difusión. Además, la agitación de las interfases reducirá al mínimo el grosor de la capa de difusión.

Coefficiente de permeabilidad

Para realizar la cuantificación del transporte a través de una membrana líquida se evalúa el flujo de materia, J, que atraviesa la membrana en un tiempo determinado. Ese flujo se define mediante la siguiente ecuación (Danesi, 1984):

$$J = -\frac{d[M]_f}{dt} \cdot \frac{V_f}{Q} \quad \text{[IV.2]}$$

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

Este flujo de materia puede además ser expresado mediante parámetros que dependen de él, como es el caso de la permeabilidad, P, que es el cociente entre el flujo y la concentración de la especie de interés en la disolución cargada.

$$P = \frac{J}{[M]_f} \quad \text{[IV.3]}$$

Sustituyendo esta ecuación en [IV.2] se obtiene:

$$P = -\frac{1}{[M]_f} \cdot \frac{d[M]_f}{dt} \cdot \frac{V_f}{Q} \quad \text{[IV.4]}$$

e integrando esta última:

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

De este modo, si se representa la variación de $-\ln[M]_f$ frente al tiempo, se obtiene una relación lineal a partir de cuya pendiente se puede calcular la permeabilidad, que vendrá dada en $\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$.

En el caso particular que nos ocupa, para obtener los datos de concentración necesarios para el cálculo del coeficiente de permeabilidad se tomaron pequeñas alícuotas (1,6 mL) de la disolución receptora a distintos tiempos. Estos volúmenes eran repuestos por un volumen igual de ácido nítrico de la misma concentración que la disolución receptora para no modificar las condiciones del sistema. Dada la importancia relativa del volumen retirado en cada caso se hizo necesario realizar una corrección de la concentración de cobre medida mediante la adición del cobre retirado en las distintas alícuotas tomadas anteriormente.

Durante los procesos de optimización del sistema se intentó siempre conseguir las condiciones que generaban el mayor coeficiente de permeabilidad.

Optimización del método

Como ya se ha comentado anteriormente se estudió la aplicación de dos métodos distintos de optimización, uno de ellos univariante y otro multivariante.

La diferencia entre uno y otro radica principalmente en que en la optimización univariante se considera la influencia que tiene en el sistema cada parámetro individualmente. De este modo se realizan los experimentos de optimización variando únicamente una de las variables mientras que el resto permanece constante. Una vez que se ha conseguido el valor óptimo de esa variable se fija y se realizan experimentos variando otra de las variables implicadas y así sucesivamente. El problema de este tipo de optimización es que no tiene en cuenta la posible interdependencia de las distintas variables objeto de estudio. Considerando que los parámetros químicos que hay que optimizar en el sistema de membranas líquidas se encuentran relacionados por medio de la reacción que se produce entre el agente transportador y la especie transportada, resulta muy útil aplicar un sistema de optimización multivariante, quedando los

procedimientos univariantes como un método de preoptimización que nos ayudará a seleccionar las condiciones iniciales de la posterior optimización multivariante.

Cuando existe interrelación entre las variables a optimizar, resulta esencial hacer uso de los procesos de optimización multivariantes, los cuales pueden ser divididos en dos grupos: diseños de tipo simultáneo y secuencial (Cela, 1994). En el caso de los diseños de tipo simultáneo todos los experimentos se planifican con anterioridad a su realización, siendo los diseños de tipo factorial un ejemplo de este tipo de optimización. Por el contrario, los diseños de tipo secuencial se basan en comparar cada solución ensayada con la mejor obtenida hasta ese momento, y en función de los resultados se aplica una estrategia para determinar qué nuevo ensayo debe realizarse. En el presente trabajo se ha utilizado un diseño de tipo secuencial, el Simplex, que será explicado detalladamente en un apartado posterior.

A continuación se presentan los experimentos realizados para optimizar el sistema utilizando las dos técnicas de optimización descritas anteriormente y los resultados obtenidos con cada una de ellas.

1. Optimización univariante

La optimización univariante consiste en observar la respuesta analítica, en este caso la permeabilidad, que resulta al modificar una variable, que en principio se considera que tiene influencia en el sistema, manteniendo fijo el valor de las demás variables. Una vez seleccionado el valor óptimo de esa primera variable se modifica otra, y así sucesivamente hasta obtener el valor de cada variable que presenta la mejor respuesta analítica.

Como ya se ha dicho, en el sistema de membrana objeto de estudio, el objetivo es optimizar el transporte a través de ella. Para ello se estudia la influencia de determinadas variables sobre el valor del coeficiente de permeabilidad. Las variables químicas de estudio fueron: acidez de las disoluciones cargada y receptora, concentración de la disolución reguladora en la fase cargada y concentración de extractante (DEHPA) en la membrana líquida. La optimización se realizó en todos los casos buscando las condiciones en las que se conseguía el mayor valor de permeabilidad.

Como veremos posteriormente, una vez seleccionadas las condiciones químicas idóneas para el transporte, se procedió igualmente a verificar el comportamiento hidrodinámico del sistema, mediante el estudio de la agitación de las distintas disoluciones utilizadas.

- **Acidez de la disolución cargada**

Los primeros experimentos para optimizar el sistema se llevaron a cabo modificando la acidez de la disolución cargada. Esta disolución se preparó con una concentración de cobre de $0,5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, y teniendo en cuenta que el sistema iba a ser aplicado al agua de mar se añadió además una concentración de $35 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de cloruro sódico. Para modificar el pH de esta disolución los experimentos se realizaron añadiendo distintas cantidades de ácido nítrico. Inicialmente el cambio de acidez se llevó a cabo sin la aplicación de una disolución reguladora, variándose el pH entre 2,5 y 6,5. El resto de las variables que intervienen en el transporte se mantuvieron constantes en las condiciones siguientes:

- acidez de la disolución receptora: $0,5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de ácido nítrico
- concentración de DEHPA en la membrana: $0,05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$
- velocidad de agitación: 500 rpm

En la figura IV.8 se muestra la variación del coeficiente de permeabilidad al modificar el pH de la disolución cargada, manteniendo el resto de las variables en las condiciones fijadas.

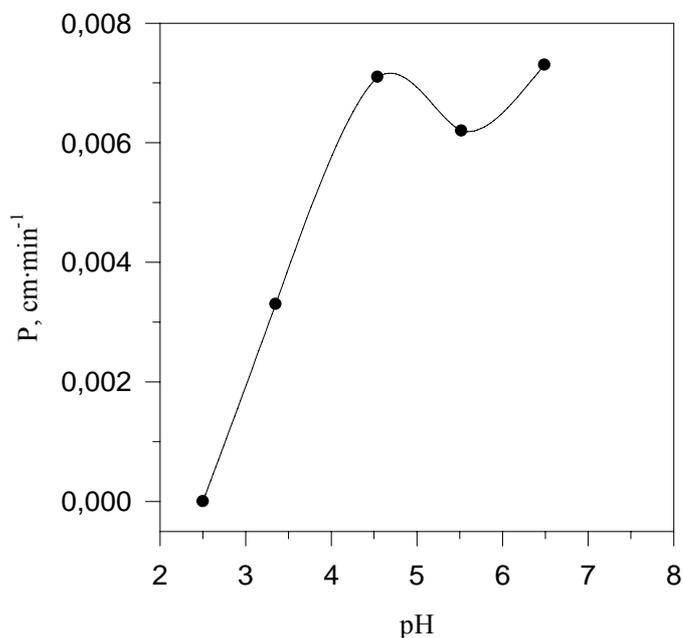


Figura IV.8. Variación del coeficiente de permeabilidad frente el pH de la disolución cargada.

Como puede observarse, cuando el pH de la disolución cargada es bajo prácticamente no se produce transporte de cobre a través de la membrana. Esto se debe probablemente a que para estos valores de acidez no se forman las especies que serán transportadas a través de la membrana líquida, requiriéndose para ello una acidez menor. Así, al ir aumentando el pH se consigue aumentar la permeabilidad, alcanzando el valor máximo entre un pH de 4,5 y 6,5. Para valores superiores se produce la precipitación del cobre en la disolución cargada. Por tanto, para realizar el estudio de la siguiente variable se seleccionó un pH de 5,5 en la disolución cargada.

- **Concentración de la disolución reguladora**

Dado el pH seleccionado en el estudio anterior, la disolución reguladora empleada consistió en un tampón acético/acetato. Para realizar la optimización de la concentración necesaria en la disolución cargada se le añadieron distintas concentraciones que variaron entre 0-0,5 mol·L⁻¹. El pH de la disolución era ajustado al valor 5,5 mediante la adición de pequeñas cantidades de amoníaco. El resto de las variables se mantuvieron con los mismos valores que en el estudio anterior.

La respuesta del sistema, en términos de permeabilidad, frente al cambio de concentración de la disolución reguladora se puede observar en la figura IV.9.

Como se ve en la figura la permeabilidad es muy baja cuando no se usa disolución reguladora. Esto se debe a que la disolución cargada recibe protones durante el transporte, de modo que su acidez aumenta y el gradiente de pH entre ambas disoluciones acuosas es menor, con lo que se ralentiza el transporte. Al aumentar la concentración de disolución reguladora se ejerce un mejor control sobre la acidez, y por tanto el transporte aumenta, alcanzando el óptimo para una concentración de ácido acético de 0,1 mol·L⁻¹. Para concentraciones mayores el valor de permeabilidad descende, llegando a alcanzar valores próximos a los obtenidos cuando no se utiliza tampón. Esto podría deberse a la formación de complejos ternarios (Cu-Acetato-

DEHPA) en la fase orgánica que presentan unos coeficientes de difusión menores. La formación de este tipo de complejos ternarios en membranas líquidas ya ha sido descrita anteriormente en otros trabajos (Moreno y Valiente, 1999; Gumí y col., 2000).

Por tanto se tomó la concentración de $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de ácido acético como valor óptimo para llevar a cabo el resto de experimentos.

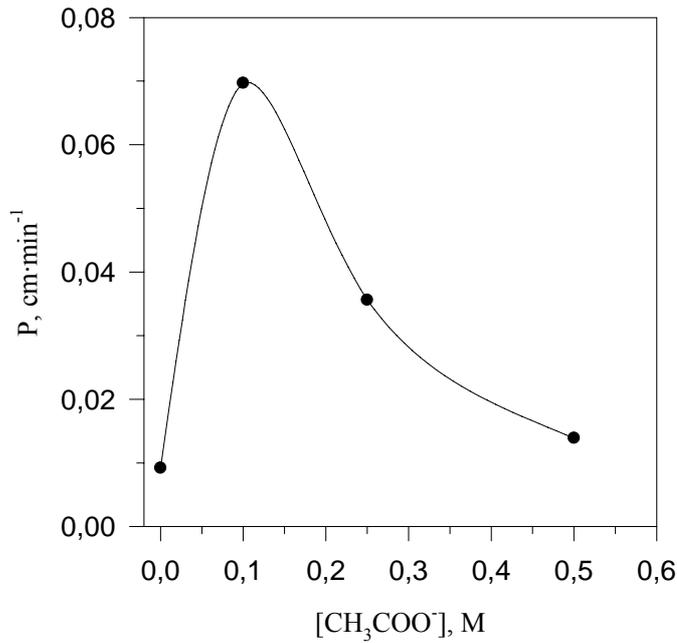


Figura IV.9. Variación del coeficiente de permeabilidad frente a la concentración de disolución reguladora.

Una vez que se fijó la concentración de disolución reguladora se repitió la optimización del pH de la disolución cargada. En la figura IV.10 se pueden ver los valores de permeabilidad obtenidos al variar el pH de la disolución cargada cuando se añade la disolución reguladora.

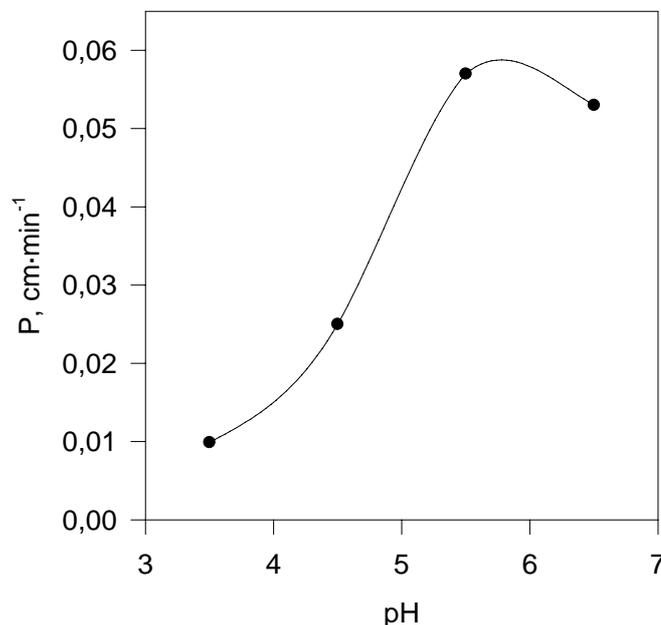


Figura IV.10. Variación de la permeabilidad frente al pH cuando se añade a la disolución cargada una disolución reguladora.

Como puede observarse el perfil que muestra el cambio de permeabilidad frente al pH de la disolución cargada en presencia de disolución reguladora es similar al obtenido cuando no existe tampón, aunque los valores son sensiblemente mayores, apareciendo de nuevo el máximo para un pH de 5,5.

Una vez realizados estos experimentos se han fijado las condiciones idóneas para la disolución cargada, esto es, un pH de 5,5 y una concentración de disolución reguladora de $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ acético/acetato. Estas condiciones permanecieron constantes en los posteriores experimentos.

- **Acidez de la disolución receptora**

La siguiente variable optimizada fue la acidez de la disolución receptora, variable que resultará esencial, pues fijará el gradiente de acidez existente entre ambas disoluciones acuosas, el cual será la fuerza impulsora del transporte. En este caso se utilizaron varias disoluciones con distintas concentraciones de ácido nítrico que variaron

en el intervalo de $0,5\text{-}3\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Los valores de permeabilidad obtenidos para cada una de ellas se han representado en la figura IV.11.

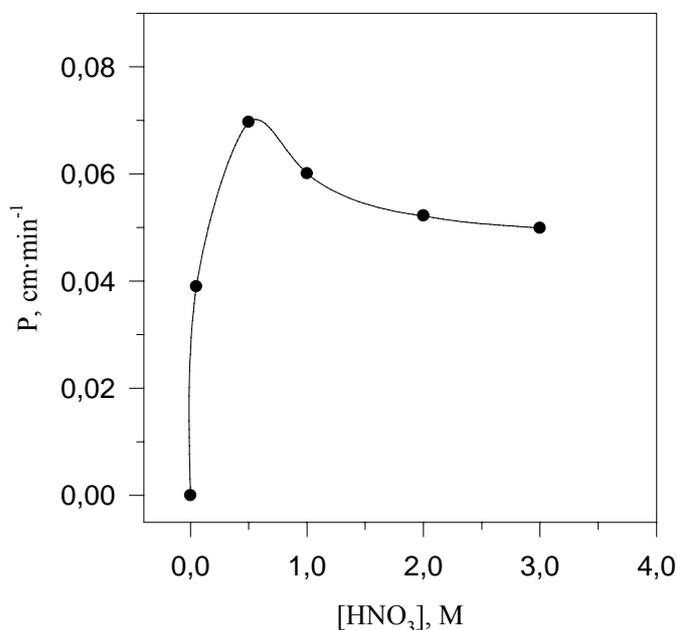


Figura IV.11. Variación de la permeabilidad frente a la concentración de ácido nítrico en la disolución receptora.

Como se observa en dicha figura la permeabilidad es nula cuando no existe ácido en la disolución receptora, lo cual era de esperar, ya que los protones son necesarios para realizar la reacción de reextracción del cobre en la disolución receptora, tal y como se desprende de la ecuación IV.1 mostrada anteriormente. Cuando aumenta la concentración de ácido nítrico en la disolución receptora se produce un aumento en el coeficiente de permeabilidad hasta llegar a un máximo para una concentración de $0,5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Para concentraciones mayores existe un ligero descenso de permeabilidad, probablemente relacionado con fenómenos de viscosidad y estabilidad de la membrana, por lo que se consideró la concentración de $0,5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de ácido nítrico como óptima para producir el transporte.

Una vez se fijó la concentración de ácido nítrico en la disolución receptora la única variable química que faltaba por estudiar era la concentración de agente extractante en la membrana.

- **Concentración de DEHPA en la membrana**

En la figura IV.12 se ha representado la variación del coeficiente de permeabilidad que se produce cuando se varía la concentración de DEHPA en la membrana líquida. En este caso la concentración de agente extractante varió en el intervalo de 0,05-0,75 mol·L⁻¹.

Como se observa en la figura, el valor de permeabilidad experimenta un aumento con la concentración de DEHPA, obteniéndose el máximo entre 0,25 y 0,5 mol·L⁻¹. Para concentraciones de DEHPA mayores de 0,5 mol·L⁻¹ el valor de permeabilidad vuelve a disminuir. Esta disminución en la permeabilidad se puede atribuir al aumento de viscosidad que experimenta la fase orgánica cuando se utilizan mayores concentraciones de DEHPA, con lo que se dificulta la difusión de las especies en el interior de la membrana y con ello el transporte.

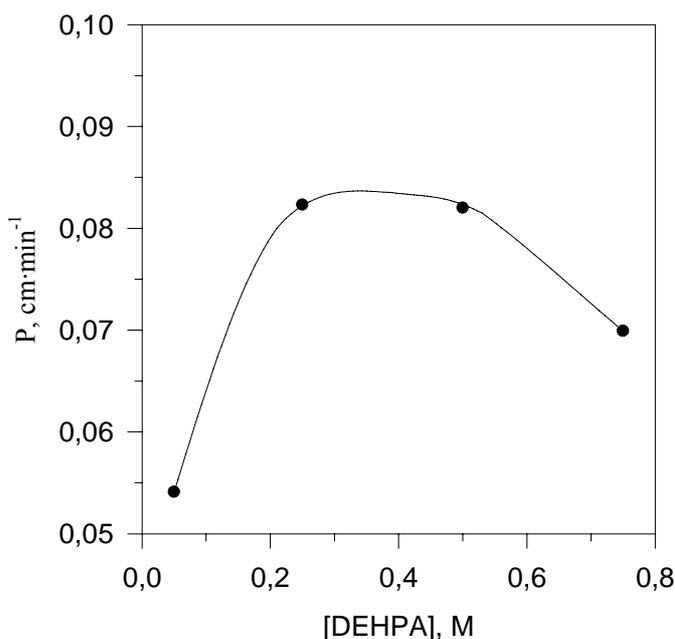


Figura IV.12. Variación de permeabilidad frente a la concentración de DEHPA en la fase orgánica.

Aunque el valor de permeabilidad permanece estable entre 0,25 y 0,5 mol·L⁻¹, en este trabajo se utilizó como óptima la concentración de 0,25 mol·L⁻¹, ya que así se minimizaba el consumo de agente extractante sin perjudicar al transporte.

Como ya se ha comentado, una vez estudiadas las variables químicas que condicionan el transporte de cobre a través de la membrana líquida, se abordó el estudio del segundo aspecto fundamental para dicho sistema de preconcentración, como son las variables físicas y temporales, esto es, la velocidad de agitación, el porcentaje de extracción y el tiempo de preconcentración.

- **Velocidad de agitación**

Para llevar a cabo el estudio de la influencia que la agitación de las disoluciones tiene sobre el valor de permeabilidad se realizaron varios experimentos variando dicha velocidad entre 300 y 1000 rpm. En la figura IV.13 se representan los valores del coeficiente de permeabilidad obtenidos para cada velocidad de agitación. Hay que señalar que el valor correspondiente a la velocidad de 1000 rpm no aparece representado debido a que para esta velocidad se producía la rotura de la membrana líquida y por tanto la mezcla de las dos fases acuosas.

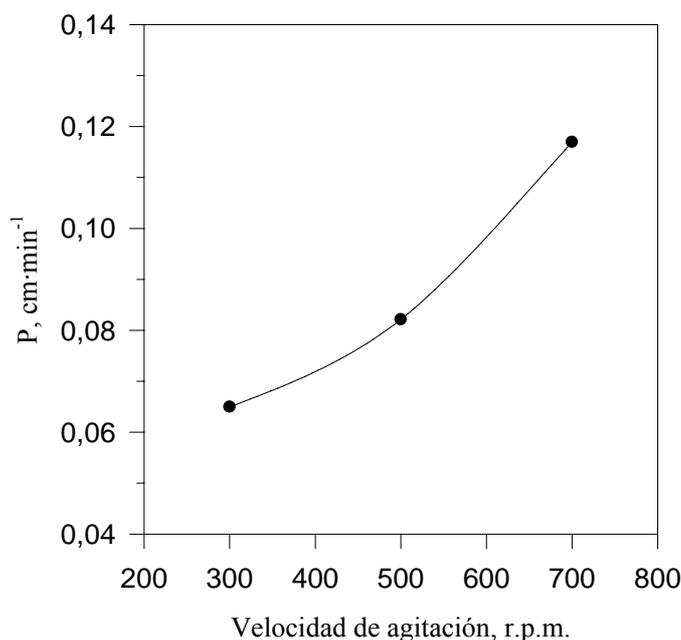


Figura IV.13. Variación de la permeabilidad frente a la velocidad de agitación del sistema.

Como se puede observar en la figura IV.13 un aumento en la velocidad de agitación implica un aumento en la permeabilidad. Esto es así porque la agitación disminuye el espesor de las capas de difusión existentes en las interfases de la fase orgánica y las disoluciones acuosas, de modo que dichos procesos de difusión a través

de esas capas es más rápido y por tanto también lo es el transporte. Para valores muy altos de agitación pueden llegar a romperse estas barreras inmóviles y se produce la mezcla de las distintas fases. De este modo, el valor óptimo de agitación del sistema se fijó en 700 rpm, que era la mayor agitación que podía utilizarse sin que se produjera la rotura de la membrana líquida.

Por lo tanto, las condiciones óptimas de funcionamiento del sistema quedaron fijadas en un pH de 5,5 y una concentración de acético/acetato de $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ para la disolución cargada, una concentración de ácido nítrico de $0,5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ en la disolución receptora, una concentración de DEHPA de $0,25 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ en la fase orgánica y una velocidad de agitación de 700 rpm.

- Porcentaje de extracción

Una vez finalizado el proceso de optimización, y antes de realizar la aplicación del sistema a la determinación de cobre en muestras reales de agua de mar, era necesario conocer si el sistema era capaz de realizar la extracción de todo el cobre presente en la muestra y cuánto tiempo era necesario para completar dicha extracción. Para ello se estudió la variación temporal de cobre en la disolución receptora para seis muestras reales de concentración conocida utilizando la celda en la que se habían llevado a cabo los estudios de optimización.

A partir de las dimensiones de la celda utilizada en la optimización univariante el factor de preconcentración que se podía conseguir considerando una extracción del 100% era de 1,65. No obstante, con la utilización de muestras reales pueden aparecer procesos que compitan con el transporte de cobre, y por tanto el factor de preconcentración puede variar. Para establecer el factor de preconcentración experimental se utilizaron muestras reales de agua de mar con concentraciones de cobre comprendidas en el intervalo de $10\text{-}80 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, y cuya concentración se determinó igualmente por voltamperometría de redisolución anódica (ASV).

El estudio del porcentaje de extracción se llevó a cabo realizando la extracción de cobre en las muestras durante nueve horas, y tomando pequeñas alícuotas de la disolución receptora cada hora. Estas alícuotas eran sustituidas por un volumen igual de ácido nítrico en la misma concentración que la disolución receptora, de modo que el volumen de ésta se mantuvo constante durante todo el experimento. De forma análoga a

lo ya indicado en los experimentos de optimización con muestras sintéticas, las concentraciones finales fueron corregidas con la cantidad de cobre extraída en cada alícuota. Los resultados obtenidos se representan en la figura IV.14 como porcentaje de extracción frente al tiempo de operación del sistema. El porcentaje de extracción corresponde al valor medio de los porcentajes obtenidos para seis muestras reales distintas dentro del rango de concentración mencionado anteriormente. Para cada valor experimental se indica igualmente un valor de precisión expresado como desviación estándar. Como se observa en dicha figura la extracción es independiente de la concentración inicial de la muestra y está prácticamente finalizada a las 2-3 horas del inicio, alcanzándose una extracción media del 87%.

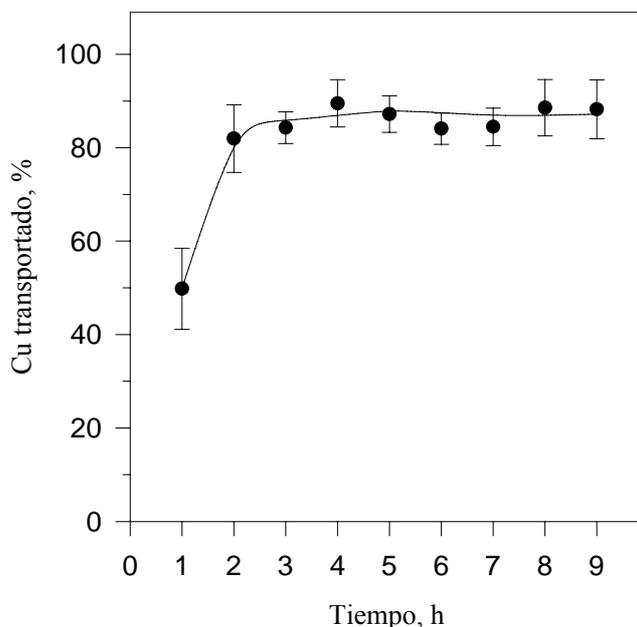


Figura IV.14. Variación del porcentaje de extracción frente al tiempo.

Considerando los volúmenes utilizados en el sistema y el porcentaje de extracción, el factor de preconcentración que se conseguía utilizando este sistema era de 1,43. Una vez hallado este factor de preconcentración para un tiempo de extracción de 3 horas y con las condiciones de funcionamiento fijadas durante la optimización, se procedió a realizar la aplicación del sistema a la determinación de cobre en muestras reales de agua de mar.

- Aplicación del sistema de membranas líquidas a muestras reales

El sistema optimizado se utilizó para determinar el contenido de cobre en cinco muestras de agua de mar procedentes del Golfo de Cádiz. La concentración de cobre de estas muestras se determinó igualmente mediante voltametría de redisolución anódica (ASV), técnica ya consolidada para el análisis de cobre en agua de mar, que por tanto nos servirá como valor de referencia. Estas concentraciones se muestran en la tabla IV.1 junto a las concentraciones obtenidas utilizando la técnica de espectroscopía de absorción atómica de llama una vez realizada la preconcentración con el sistema de membranas líquidas propuesto. Ambos datos de concentración se acompañan de las desviaciones estándar calculadas a partir del análisis de varias réplicas de la muestra. Así mismo se muestran los resultados obtenidos al aplicar las pruebas estadística t-Student y F-Fisher, para comparación de medias y varianzas que se explican detalladamente en el anexo 4.

Tabla IV.1. Resultados del análisis de cobre, en $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, en cinco muestras de agua de mar.

Muestra	$[\text{Cu}^{2+}]_{\text{ASV}} \pm s$	$[\text{Cu}^{2+}]_{\text{BLM}} \pm s$	ϵ_r	F	Test-F	t	Test-t
1	$71,0 \pm 1,6$	$73,1 \pm 10,2$	+2,96	0,02	Aceptado	0,29	Aceptado
2	$44,6 \pm 3,6$	$47,6 \pm 7,3$	+6,73	0,24	Aceptado	0,52	Aceptado
3	$22,1 \pm 1,8$	$21,2 \pm 2,4$	-4,07	0,56	Aceptado	0,42	Aceptado
4	$54,3 \pm 2,4$	$54,3 \pm 6,8$	0	0,12	Aceptado	0	Aceptado
5	$18,7 \pm 4,1$	$19,5 \pm 12,3$	+4,28	0,11	Aceptado	0,09	Aceptado

F(3,2)=; t3= 3,18

Como se observa en la tabla, los errores relativos obtenidos cuando se usa el sistema de membranas líquidas, respecto al valor considerado de referencia, estuvieron en la mayoría de los casos por debajo del 5%. Además, la prueba estadística muestra que no existen diferencias significativas entre las concentraciones de cobre determinadas por ambos métodos para un nivel de probabilidad del 95%, de modo que se puede afirmar la validez del método de preconcentración con membranas líquidas desarrollado en el presente trabajo para el análisis de cobre en agua de mar.

Aunque se ha demostrado la utilidad del método de preconcentración presentado, si tenemos en cuenta que en un gran número de casos la concentración de

cobre presente en agua de mar está por debajo de las 18 ppb, concentración mínima utilizada en estos experimentos, el factor de preconcentración obtenido no era suficiente para realizar la determinación de cobre en un gran número de muestras reales mediante la técnica de absorción atómica de llama. Por esta razón se decidió utilizar una nueva celda que consiguiera un factor de preconcentración mayor. Para estudiar el comportamiento del sistema en esta nueva celda se utilizó una optimización de tipo multivariante.

2. Optimización multivariante: Simplex

Esta técnica de optimización multivariante fue introducida por Spendley y col. (1962). El simplex es una figura geométrica con $K+1$ vértices en un espacio de K dimensiones, es decir, sería un triángulo en dos dimensiones, un tetraedro en tres dimensiones, etc. Para maximizar una respuesta analítica que dependa de un número K de factores debe comenzarse con un diseño inicial de $K+1$ experimentos. Una vez obtenidas las respuestas correspondientes a los experimentos del simplex inicial, se lleva a cabo un experimento nuevo. Los valores de las variables que corresponden a este nuevo experimento se obtienen aplicando las siguientes reglas (Bayne y Rubin, 1986):

Regla 1. El nuevo simplex se obtiene rechazando el vértice con peor respuesta y sustituyéndolo por un nuevo valor en la dirección opuesta, tal y como se representa en la figura IV.15, para la que se han supuesto tan solo dos variables.

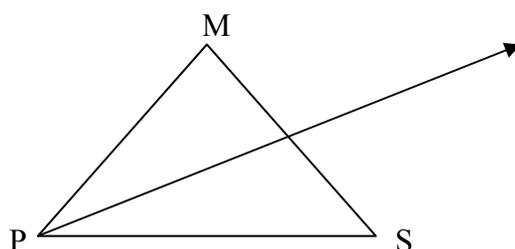


Figura IV.15. Reflexión del simplex en dirección opuesta al peor valor (P). M: mejor respuesta; S: segunda peor respuesta.

Podemos calcular el valor del centroide, C , como el valor medio entre los distintos vértices una vez eliminado el de peor respuesta. Los valores del vértice reflejado, R , se construyen añadiendo al centroide (C) la distancia entre P y C , según la ecuación IV.6, situándose el nuevo vértice tal y como se observa en la figura IV.16.

$$R = C + (C - P) \quad [IV.6]$$

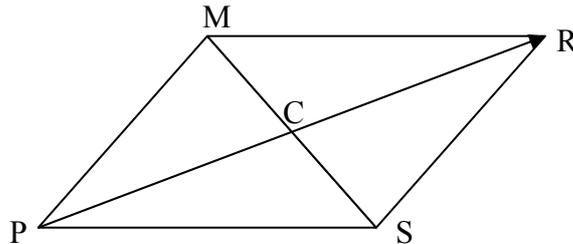


Figura IV.16. Reflexión del peor vértice (P) a través del centroide (C) hacia el nuevo vértice (R).

Una vez evaluado el nuevo punto, si éste genera la peor respuesta sería imposible volver a aplicar la regla 1, ya que obtendríamos de nuevo el simplex anterior. Así que en ese caso habría que aplicar la regla 2.

Regla 2. Cuando el nuevo vértice es el que presenta la peor respuesta, el simplex se mueve rechazando el vértice con la segunda peor respuesta (S). El resultado genera un cambio en la dirección de avance del simplex, como se representa esquemáticamente en la figura IV.17.

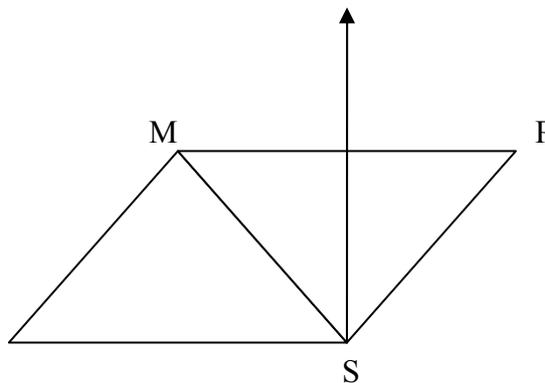


Figura IV.17. Cambio de dirección mediante el rechazo del segundo peor valor (S). P : peor respuesta; M : mejor respuesta.

Regla 3. Si un vértice se repite después de un número de simplex $K+1$ y no ha sido eliminado debe ser reevaluado experimentalmente antes de continuar.

Aunque estas son las tres reglas básicas que rigen la optimización simplex, ésta ha sido modificada en varias ocasiones para avanzar más rápidamente en la búsqueda del óptimo, dando lugar a distintos métodos de optimización basados en el simplex.

En este trabajo se ha utilizado el Método del Simplex Modificado (MSM) de Nelder y Mead (1965), que además de las reflexiones ya introducidas permite realizar expansiones y contracciones del simplex como se muestran en la figura IV.18.

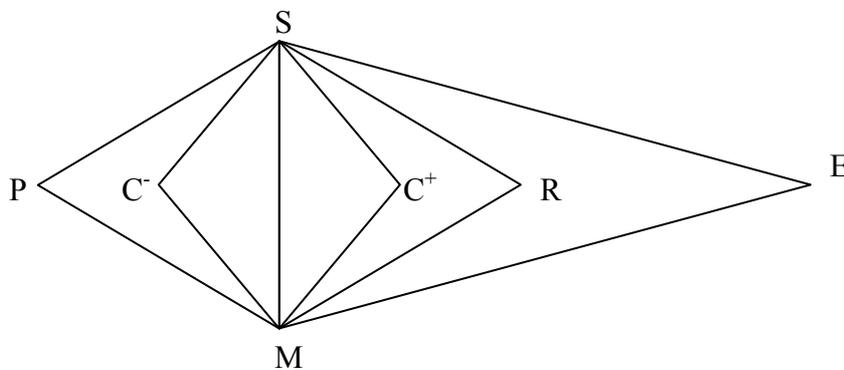


Figura IV.18. Posibles movimientos en el simplex modificado. P: Peor respuesta; M: mejor respuesta; S: segunda peor respuesta; R: reflexión; E: Expansión; C⁺: Contracción positiva; C⁻: Contracción negativa.

Los movimientos del simplex modificado se calculan dependiendo del valor de la respuesta en el vértice reflejado (R) respecto al resto de vértices, según las siguientes reglas.

Regla 1. Si la respuesta en el vértice reflejado es mejor que la mejor obtenida anteriormente ($R > M$), el nuevo vértice se calcula mediante una expansión (E) siguiendo la ecuación IV.7.

$$E = C + n(C - P) \quad [IV.7]$$

donde el valor n es una constante fijada de antemano y que debe ser mayor a 1, usándose generalmente $n = 2$.

Regla 2. Si la respuesta en el vértice reflejado se encuentra entre el mejor valor y el segundo peor valor ($S < R < M$), el nuevo vértice se calcula mediante una reflexión.

Regla 3. Si la respuesta en el vértice reflejado es peor que el segundo peor valor obtenido anteriormente ($R < S$), el nuevo vértice se calcula mediante una contracción.

- a. Si $R > P$ se realiza una contracción positiva mediante la ecuación IV.8.

$$C^+ = C + m(C - P) \quad [IV.8]$$

siendo m un número entre 0 y 1, generalmente $m = 0,5$.

- b. Si $R < P$ se realiza una contracción negativa mediante la ecuación IV.9.

$$C^+ = C - m(C - P) \quad [IV.9]$$

siendo m un número entre 0 y 1, generalmente $m = 0,5$.

De este modo, a medida que se van calculando los nuevos vértices el simplex se aproxima al valor óptimo haciéndolo en este caso con mayor flexibilidad.

Un aspecto, siempre complejo, relacionado con la optimización simplex es establecer cuándo se ha alcanzado el óptimo. Para decidir cuándo hay que parar el simplex pueden aplicarse diversos criterios basados en diferentes principios:

- Se excede un número preestablecido de vértices.

Antes de comenzar el análisis se puede fijar un número máximo de vértices teniendo en cuenta aspectos de tiempo, esfuerzo y dinero invertidos en el análisis.

- La distancia entre los vértices es demasiado pequeña.

A medida que el simplex avanza acercándose al óptimo, los pasos para calcular el siguiente simplex son más y más pequeños. Se puede establecer previamente que el simplex pare cuando ese paso llegue a un valor mínimo. Generalmente ese valor se calcula como una fracción del paso inicial.

- La varianza de la respuesta es demasiado pequeña.

Este último criterio resulta el más fiable, pues es el más fácilmente cuantificable. Se basa en comparar la varianza de las respuestas obtenidas para los vértices de un simplex (S_1^2) con una varianza propia del método (S_2^2), la cual debe ser previamente establecida. Una pequeña varianza (S_1^2) podría significar que los diferentes valores de respuesta de los vértices no son atribuibles a sus diferentes condiciones experimentales y por tanto se deben sólo al error aleatorio. La comparación entre ambas varianzas se lleva a cabo mediante el valor del parámetro F, siendo $F = S_1^2/S_2^2$. El valor F obtenido experimentalmente se compara con el valor tabulado según los grados de libertad de ambas varianzas de modo que si la teórica es mayor que la calculada se concluye que las variaciones del simplex se deben únicamente a errores aleatorios y se habría encontrado el óptimo.

- **Optimización química de un sistema de membranas líquidas con el método simplex**

En este trabajo se aplicó la optimización simplex a las variables químicas debido a su interrelación, no incluyéndose las condiciones hidrodinámicas del sistema, por lo que ésta última variable se estudió de forma independiente.

Teniendo en cuenta que la optimización se realizará sobre cuatro variables, el simplex inicial se formará con cinco experimentos. Las condiciones de estos experimentos fueron seleccionadas mediante el programa informático Multisimplex a partir de un valor de referencia y un tamaño de paso, los cuales se muestran en la tabla IV.2.

Tabla IV.2. Condiciones para establecer el simplex inicial.

	Valor de referencia	Tamaño de paso
pH muestra	3,0	1,0
AcH/Ac⁻, M	0,50	0,10
[HNO₃], M	3,00	1,00
[DEHPA], M	0,100	0,025

Como ya se ha comentado, para realizar el simplex se utilizó una celda con una razón de volúmenes mayor que la utilizada en la optimización univariante. Dicha celda

tenía un diámetro de 1,7 cm en el vaso interno y 4,4 cm de vaso externo, lo que permitía un volumen de 48 mL de la disolución cargada y 8,5 mL de la disolución receptora, consiguiendo así una razón de volúmenes de 5,65. Todos los experimentos se realizaron con disoluciones cargadas que tenían una concentración de cobre de $0,5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

En la tabla IV.3 se muestran las condiciones experimentales de cada simplex y los valores de permeabilidad obtenidos en cada caso. Es necesario señalar que estos valores de permeabilidad difieren de aquellos obtenidos cuando se realizó la optimización univariante debido a que en este caso se utilizó otra celda para la membrana líquida con una mayor relación de volúmenes.

Tabla IV.3. Parámetros de la optimización simplex.

Vértice	Tipo	pHmuestra	AcH/Ac ⁻ (M)	[HNO ₃](M)	[DEHPA](M)	P(x 10 ³ cm·min ⁻¹)
1	I	2,5	0,45	3,50	0,075	0,0
2	I	3,5	0,55	3,50	0,075	2,9
3	I	3,5	0,45	3,50	0,125	4,1
4	I	2,5	0,55	2,50	0,125	0,5
5	I	3,5	0,45	2,50	0,075	3,9
6	R	4,0	0,55	2,50	0,125	18,2
7	E	4,8	0,60	2,00	0,150	20,6
8	R	5,2	0,47	3,25	0,088	16,8
9	R	5,0	0,43	2,13	0,144	26,1
10	E	5,8	0,38	1,44	0,179	19,8
11	R	5,8	0,52	2,94	0,179	12,5
12	R	6,9	0,56	1,66	0,156	12,0
13	C ⁺	6,1	0,53	2,12	0,148	15,1

I: Simplex inicial; R: Reflexión; E: Expansión; C : Contracción positiva; P: Coeficiente de permeabilidad

El simplex se paró después de trece experiencias siguiendo el criterio de la varianza. En este caso la varianza del método se calculó a partir de cinco repeticiones de el experimento número 3, y se obtuvo un valor de $3,44\cdot 10^{-5}(S_2)$. Para calcular la varianza del simplex se tuvieron en cuenta los valores de los coeficientes de

permeabilidad de los cinco experimentos con los que se realizaría el cálculo del siguiente vértice, y que se recogen en la tabla IV.4.

Tabla IV.4. Experimentos para el cálculo de la varianza del simplex.

Vértice	pHmuestra	AcH/Ac ⁻ (M)	[HNO ₃](M)	[DEHPA](M)	P(x 10 ³ cm·min ⁻¹)
7	4,8	0,60	2,00	0,150	20,6
8	5,2	0,47	3,25	0,088	16,8
9	5,0	0,43	2,13	0,144	26,1
11	5,8	0,52	2,94	0,179	12,5
13	6,1	0,53	2,12	0,148	15,1

De este modo, la varianza calculada para el último simplex a partir de los cinco valores de permeabilidad de la tabla fue de $2,80 \cdot 10^{-5} (S_1)$. Con este valor y el obtenido en para el método se calculó el estadístico F tal y como se ha explicado, obteniendo un valor de 0,816, que al ser menor que el valor tabulado $F_{4,3}(1,06)$ indica que las diferencias de permeabilidad para los distintos vértices son atribuibles sólo a errores aleatorios.

Después de realizar todos los experimentos el valor óptimo de permeabilidad se obtuvo para el vértice 9, por lo que las variables químicas del sistema se fijaron en un pH de 5 y una concentración de disolución reguladora de $0,43 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ en la disolución cargada, una concentración de ácido nítrico de $2,13 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ en la disolución receptora y una concentración de DEHPA en la membrana de $0,144 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

- **Optimización hidrodinámica del sistema**

Finalmente se investigaron las condiciones hidrodinámicas del sistema, mediante el estudio de la influencia de la velocidad de agitación sobre el transporte. No se utilizó el estudio realizado en el desarrollo de la optimización univariante debido a que, como ya se ha señalado, en este caso la celda utilizada para realizar los experimentos tenía unas dimensiones distintas. Este cambio de dimensiones afecta a la respuesta del sistema frente a las condiciones hidrodinámicas, por lo que se repitió el estudio. Los resultados obtenidos en este caso se presentan en la figura IV.19.

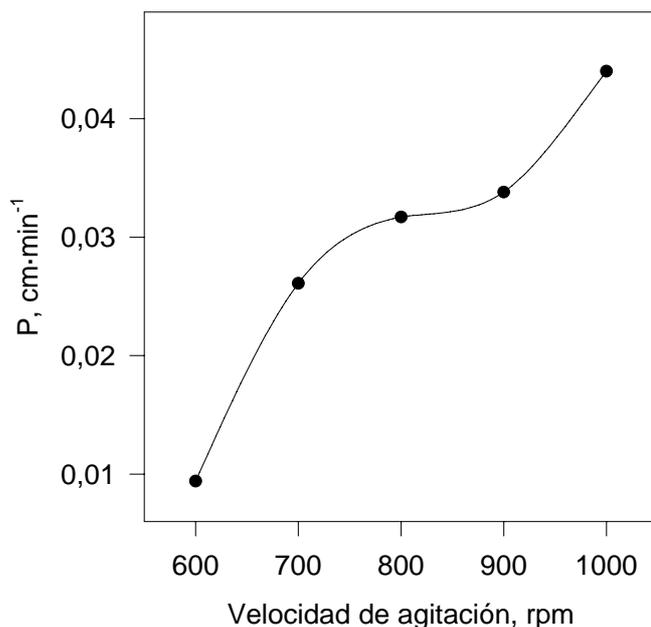


Figura IV.19. Variación de la permeabilidad frente a la velocidad de agitación del sistema.

Como se observa, la permeabilidad aumentó al aumentar la velocidad de agitación, obteniendo el máximo valor para una velocidad de 1000 rpm. Para velocidades de agitación mayores se producía la rotura de la membrana líquida, y por tanto se producía la mezcla de las disoluciones acuosas. Por esto se consideró como óptima la velocidad de 1000 rpm.

- **Porcentaje de extracción**

Al igual que para las condiciones óptimas obtenidas con el método univariante, se realizaron diferentes experimentos para conocer el porcentaje de extracción en muestras reales para así poder establecer el factor de preconcentración.

Este estudio se realizó de forma similar al desarrollado con la optimización univariante. En este caso las concentraciones de cobre en las muestras se encontraban en el intervalo de 2-50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ y las experiencias se llevaron a cabo durante 12 horas. De nuevo se tomaron pequeñas alícuotas de la disolución receptora cada hora, siendo sustituidas por un volumen igual de ácido nítrico de la misma concentración. La concentración de cobre determinada en cada una de estas alícuotas se representa en la figura IV.20 como % de preconcentración. Este porcentaje se ha calculado como valor

medio de los resultados obtenidos en el análisis de siete muestras reales con distintas concentraciones de cobre, habiéndose igualmente estudiado la imprecisión en forma de desviación estándar, la cual se ha incluido como barras de error.

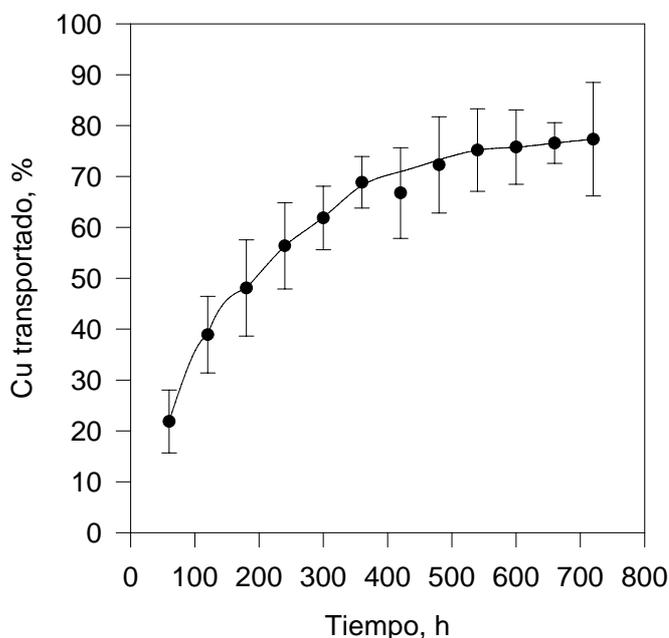


Figura IV.20. Variación del porcentaje de extracción frente al tiempo.

De los resultados mostrados en la figura IV.20, se desprende de nuevo que las nuevas dimensiones de la celda provocan una variación del transporte, siendo más lento en este caso, en el que la extracción no se completaba hasta las nueve horas, consiguiendo un porcentaje final de recuperación de 76,21%. Este porcentaje de extracción, junto con la relación de volúmenes empleados en este sistema resulta en un factor de preconcentración final de 4,30, suponiendo que a pesar de necesitar un mayor tiempo, resulta más de cuatro veces el factor obtenido con la otra celda utilizada. Esto permitirá por tanto alcanzar límites de detección más bajos.

Una vez que se establecieron las condiciones óptimas de funcionamiento del sistema, así como el factor de preconcentración obtenido y el tiempo necesario para alcanzarlo, se realizó su aplicación para la determinación de cobre en muestras reales de agua de mar.

- Aplicación del sistema de membranas líquidas a muestras reales

Al igual que en el diseño utilizado en la optimización univariante, para comprobar la validez del sistema para la determinación de cobre en agua de mar se realizó el análisis de cobre en muestras reales de concentración conocida. En este caso se aplicó el sistema de preconcentración a muestras con concentraciones de cobre menores de $5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ y que habían sido previamente analizadas mediante la técnica de voltametría de redisolución anódica. Los resultados obtenidos con esta técnica y con la aplicación del sistema de membranas líquidas propuesto previamente a la determinación mediante espectroscopía de absorción atómica de llama, se presentan en la tabla IV.5. Asimismo se muestran los resultados obtenidos al comparar ambos valores mediante las pruebas t-student y F-Fisher que se describen en el anexo 4.

Tabla IV.5. Resultados del análisis de cobre en cinco muestras de agua de mar.

Muestra	[Cu ²⁺] _{ASV} ± s	[Cu ²⁺] _{BLM} ± s	ε _r	F	Test-F	t	Test-t
1	4,63 ± 0,11	4,86 ± 0,23	4,97	4,37	Aceptado	1,57	Aceptado
2 ^(*)	3,47 ± 0,03	3,77 ± 0,52	8,64	300,44	Rechazado	0,81	Aceptado
3 ^(a)	2,51 ± 0,25	2,84 ± 0,03	13,15	69,44	Aceptado	1,76	Aceptado
4	3,01 ± 0,37	2,46 ± 0,49	-18,27	1,75	Aceptado	1,45	Aceptado
5 ^(a)	5,02 ± 0,39	5,26 ± 0,37	4,78	1,11	Aceptado	0,68	Aceptado

ε_r : error relativo; F_(1,2)=38,51; t₃=3,18; (a) F_(2,1)=799,5; (*) t₁=12,71

Como se observa en la tabla, los resultados obtenidos de las pruebas estadísticas demostraron que no existían diferencias significativas para un nivel de probabilidad del 95% entre las concentraciones obtenidas mediante ambas técnicas. De nuevo queda demostrada la utilidad del sistema de membranas líquidas propuesto para la determinación de cobre en agua de mar.

Análisis multielemental

Como ya se ha comentado anteriormente, en ocasiones resulta útil realizar la extracción simultánea de varios metales que se encuentran en una matriz compleja. Algunos ejemplos que se han citado usaron el mismo agente extractante que el utilizado en el presente trabajo para realizar extracciones simultáneas con membranas líquidas de cadmio y plomo (Gumí y col., 2000) o cobre, cadmio y aluminio (Malcus y col., 1996). Por esta razón, una vez que se consiguió establecer un método de preconcentración de cobre en agua de mar mediante membranas líquidas se contempló la posibilidad de utilizar dicho método para la preconcentración simultánea de otros metales.

No hay que olvidar que la extracción de un determinado metal no depende aisladamente de la selectividad del agente extractante utilizado, sino que ésta va a depender además de las condiciones químicas del sistema. En este caso las condiciones químicas que se usaron habían sido optimizadas para llevar a cabo la extracción de cobre, y el objetivo planteado inicialmente era ver qué otros metales podían ser preconcentrados utilizando estas mismas condiciones. Para ello se utilizaron varias muestras de agua de mar a las que se les aplicó el sistema de preconcentración optimizado mediante el método simplex. Se eligió éste diseño y no el otro debido a que éste presentaba el mayor factor de preconcentración, y por tanto resultaba más interesante para su aplicación a las aguas marinas.

En primer lugar, para saber qué metales eran extraídos junto con el cobre, se realizaron distintos experimentos de preconcentración. Estos experimentos consistieron en aplicar el sistema a varias muestras reales durante nueve horas, el tiempo necesario para completar la extracción de cobre. Durante ese tiempo se tomaron pequeñas alícuotas de la disolución receptora, a intervalos de una hora, que eran sustituidas por idénticos volúmenes de ácido nítrico. A estas alícuotas se les determinó la concentración de plata, cobalto, aluminio, cadmio, manganeso, níquel, plomo y zinc utilizando la técnica de espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS). Durante estas experiencias los únicos metales que experimentaron una extracción apreciable fueron manganeso, zinc, plomo, aluminio, cadmio y níquel, siendo inapreciables la plata y el cobalto. A pesar de conseguir transportar simultáneamente todos estos metales con las condiciones óptimas para la extracción de cobre, en la mayoría de los casos los resultados presentaron una baja reproducibilidad.

Finalmente, para validar los resultados obtenidos se aplicó el factor de preconcentración obtenido en cada caso para la determinación de la concentración de estos metales en muestras de agua de mar de concentración conocida una vez realizada la extracción mediante la membrana líquida.

A continuación se exponen detalladamente los resultados obtenidos para cada uno de los metales que pudieron ser extraídos junto con el cobre.

1. Zinc

En la figura IV.21 se presenta el porcentaje de extracción obtenido para el zinc durante las nueve horas de experimento. Los valores se corresponden a la media obtenida del análisis de cinco muestras reales de diferentes concentraciones, las cuales abarcaban un intervalo de 70-500 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

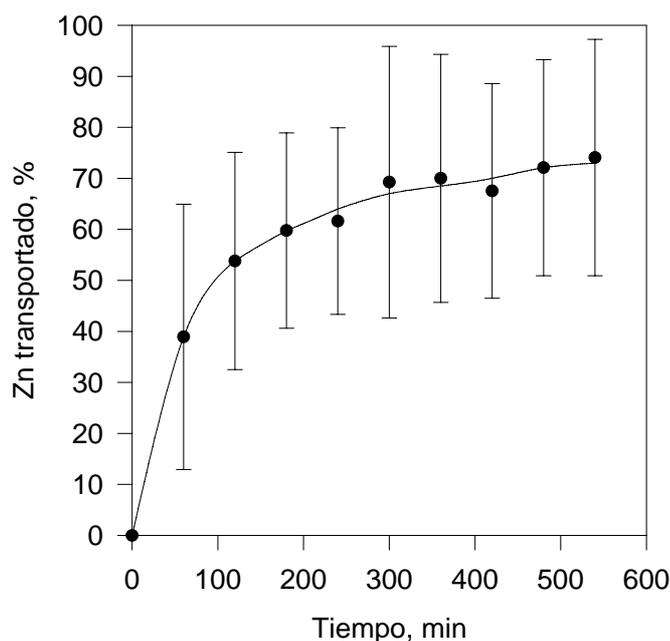


Figura IV.21. Variación del porcentaje de extracción de zinc frente al tiempo.

En la figura se observa que después de nueve horas de extracción se ha conseguido transportar un promedio de 74,06% del zinc presente en la muestra, aunque no se puede determinar claramente si para tiempos mayores pueden conseguirse mayores porcentajes. Este porcentaje de extracción, junto con la relación de volúmenes

empleados en este sistema resulta en un factor de preconcentración final de 4,18, casi el mismo que se conseguía en el caso del cobre. El problema, tal y como se observa claramente en la figura IV.21, es que el transporte de este metal presentó una gran variabilidad, con desviaciones estándar superiores al 30%.

Finalmente, y a pesar de ello, se ensayó la utilización del sistema para determinar la concentración de zinc en cuatro muestras de agua de mar cuyo contenido en este metal se había determinado anteriormente mediante la técnica de espectrometría de ICP-MS. Aunque esta técnica presenta la indudable ventaja de unos límites de detección excelentes, resulta como es sabido problemática su utilización para la determinación de muestras salinas, tal y como se ha comentado anteriormente. En este caso, los resultados obtenidos con esta técnica son los valores medios calculados a partir del análisis de diferentes diluciones de las muestras de agua de mar, realizadas para disminuir en lo posible la concentración salina de las mismas antes de su introducción en el plasma.

Para establecer si existían diferencias significativas entre las concentraciones determinadas por ambos métodos se aplicaron los test estadísticos F-Fisher de comparación de desviaciones estándar y t-student para comparación de medias que han sido descritos detalladamente en el anexo 4. Los resultados obtenidos en dicha comparación se muestran en la tabla IV.6.

Tabla IV.6. Concentración de zinc, en $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, en cuatro muestras de agua de mar.

Muestra	[Zn]_{ICP-MS} ± s	[Zn]_{BLM} ± s	ε_r, %	F	Test-F	t	Test -t
1	487,42 ± 19,30	467,64 ± 160,19	-4,05	68,89	Aceptado	0,17	Aceptado
2	87,36 ± 3,24	106,94 ± 9,40	+22,41	8,42	Aceptado	2,78	Aceptado
3	98,55 ± 43,12	87,40 ± 4,09	-11,31	111,15	Aceptado	0,36	Aceptado
4	140,07 ± 40,92	136,17 ± 10,41	-2,78	15,45	Aceptado	0,13	Aceptado

ε_r : error relativo; F_(1,1)=647,8; t₃=4,3

Como se observa en la tabla, a pesar de la poca reproducibilidad del análisis mediante el sistema de membrana líquida propuesto, no existen diferencias significativas entre los resultados obtenidos con esta metodología y aquellos obtenidos mediante el análisis directo por espectrometría de masas con plasma acoplado

inductivamente. En algunos casos, como por ejemplo la muestra 2, el error relativo es elevado, probablemente debido no sólo a la variabilidad que presenta el análisis con membranas líquidas sino también a las dificultades asociadas a la determinación de muestras de salinidades elevadas mediante ICP-MS.

Li y col. (1993) comparan los resultados obtenidos al analizar disoluciones acuosas sintéticas mediante la espectroscopía de absorción atómica con atomización electrotérmica y aquellos obtenidos al utilizar una membrana de emulsión con una mezcla de dos agentes extractantes (DEHPA y PC88A) para la extracción simultánea de cobalto, cobre, hierro, manganeso, níquel, plomo y zinc. En el caso del zinc los resultados entre ambos métodos presentaron errores relativos alrededor del 9%, consiguiendo una extracción del 100% cuando en la disolución sólo estaba presente este elemento. Este porcentaje de extracción se reducía al 97% cuando en la disolución se encontraban presentes los otros elementos metálicos, lo que lleva a pensar que en el caso de muestras reales con matrices complejas esta reducción será más notable, tal y como se ha comprobado en el presente trabajo.

A pesar de los inconvenientes que el sistema de membranas propuesto presenta para la determinación de zinc en agua de mar no hay ninguna duda de que ofrece una buena alternativa para el análisis, al menos estimativo, de dicho elemento en este tipo de aguas. Además es importante recordar que el sistema ha sido optimizado únicamente para el análisis de cobre, y la posibilidad de obtener simultáneamente concentraciones fiables de otros elementos presentes en la muestra, como el zinc, es una indudable ventaja añadida.

2. Plomo

Los resultados obtenidos del estudio del transporte de plomo a través del sistema de membrana líquida optimizado para la extracción de cobre se presentan en la figura IV.22.

Como se ve en la figura, los resultados obtenidos para el plomo presentaron, al igual que en el caso del zinc, una alta variabilidad con desviaciones estándar por encima del 30%. A pesar de esto, el porcentaje de plomo transportado fue alto y se observa claramente que prácticamente finaliza la extracción después de seis horas, alcanzando una media del 57,88%. Este porcentaje, unido a la relación de volúmenes de la celda

empleada para el transporte supondría un factor de preconcentración final para el plomo de 3,28.

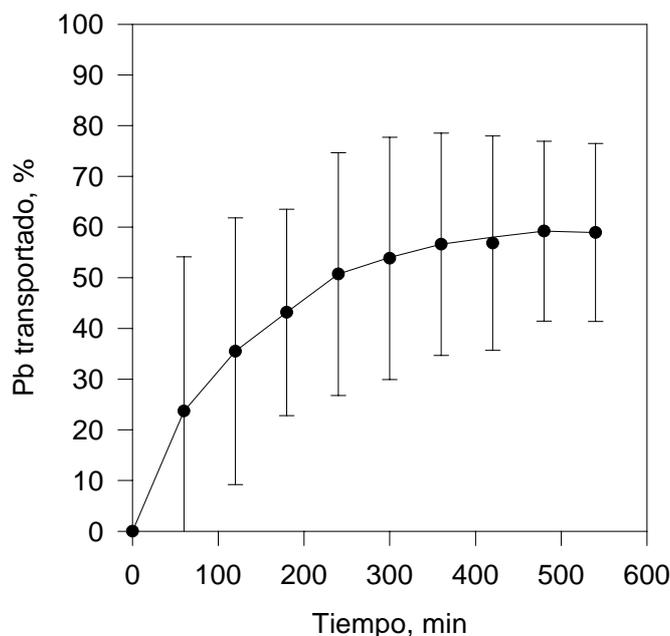


Figura IV. 22. Variación del porcentaje de extracción de plomo frente al tiempo.

En el trabajo de Li y col. (1993) expuesto anteriormente también se obtuvo para el plomo un porcentaje de extracción menor que para el zinc, siendo del 77% en el caso de disoluciones acuosas sintéticas de este metal y del 87% cuando estaban presentes otros elementos. Para este metal las diferencias entre los resultados obtenidos mediante el sistema de membranas y la técnica de absorción atómica con atomización electrotérmica fue mayor que para el zinc, alcanzando errores relativos del 13%. Porcentajes de transporte similares fueron obtenidos por Djane y col. (1997) mediante una membrana líquida soportada, con DEHPA en keroseno como fase orgánica, para extraer simultáneamente cadmio, cobre y plomo. En este trabajo se obtuvo una eficiencia en el transporte de plomo del 79 % para muestras de agua sintéticas, mientras que para agua de río, a la que se le había añadido una concentración conocida de plomo, la eficiencia bajó a un 67%, demostrando de nuevo la influencia que la matriz tiene sobre el transporte de un elemento a través de la membrana líquida.

En nuestro caso, al igual que para el zinc, comparamos los resultados obtenidos del análisis de plomo mediante el sistema de membrana líquida y mediante la inyección de varias diluciones de cuatro muestras reales de agua de mar en un espectrómetro de masas con plasma acoplado inductivamente. Los resultados de dicha comparación se presentan en la tabla IV.7.

Tabla IV.7. Concentración de plomo, en $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, en cuatro muestras de agua de mar.

Muestra	[Pb] _{ICP-MS} ± s	[Pb] _{BLM} ± s	ϵ_r	F	Test-F	t	Test -t
1	22,13	26,41 ± 2,13	+ 19,34	-	-	-	-
2	3,96 ± 1,48	3,87 ± 1,05	+ 2,27	1,99	Aceptado	0,07	Aceptado
3	4,06 ± 0,26	5,57 ± 0,15	+37,19	3,00	Aceptado	7,21	Rechazado
4	6,29 ± 1,67	7,26 ± 0,91	+15,42	3,36	Aceptado	0,72	Aceptado

ϵ_r : error relativo; $F_{(2,1)}=799,5$; $t_3= 3,18$

Como se observa en la tabla, en la mayoría de los casos el error relativo calculado es excesivamente elevado, aunque para algunas muestras la prueba estadística no encuentre diferencias significativas entre los resultados obtenidos mediante los dos métodos, aunque esto no resulta extraño en este tipo de muestras. Así pues, los resultados obtenidos del análisis de plomo mediante el sistema de membrana líquida empleado, aunque no proporcionan la exactitud adecuada desde un punto de vista cuantitativo, ofrecen una posibilidad idónea de obtener un conocimiento preliminar del contenido de plomo de la muestra.

3. Cadmio

En la figura IV.23 se presentan los resultados obtenidos del estudio de transporte de cadmio a través del sistema de membranas líquidas propuesto.

Como se observa en la figura, en el caso del cadmio se obtuvo una muy buena reproducibilidad, con desviaciones estándar muy pequeñas. Después de nueve horas se consiguió transportar el 44,11 % del cadmio presente en la muestra, aunque este valor podría aumentar si se aumenta el tiempo de extracción, ya que como se observa en la figura no se alcanza una estabilización de este valor una vez transcurridas las nueve horas de extracción. El porcentaje obtenido junto a la relación de volúmenes de la celda

utilizada se traduce en un factor de preconcentración final de 2,49. En los trabajos citados anteriormente se obtuvieron porcentajes mayores, del 98% para muestras sintéticas en las que se encontraba el metal aislado (Li y col., 1993), y del 64 % para el análisis de muestras de río con una concentración de cadmio añadida (Djane y col., 1997). Actualmente hemos conseguido obtener el transporte de todo el cadmio presente en la muestra cuando se añade citrato sódico a la misma, mediante el uso de una membrana líquida optimizada previamente para la extracción de dicho metal (Irigoyen y col., 2005).

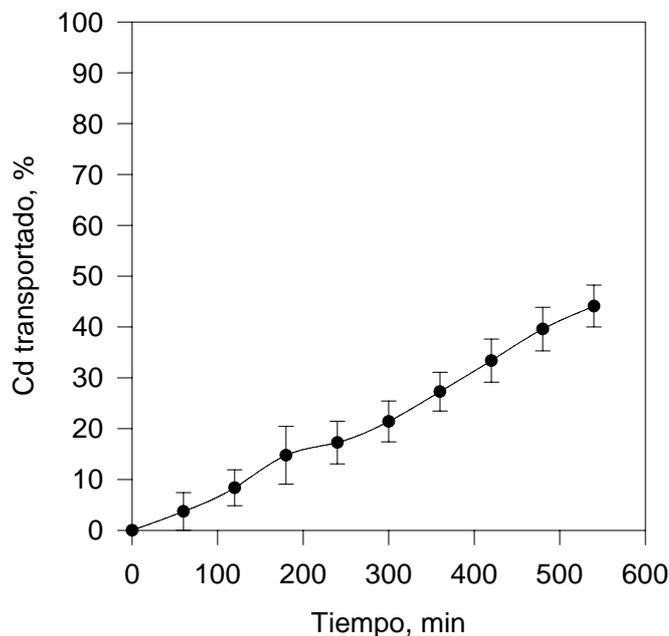


Figura IV. 23. Variación del porcentaje de extracción de cadmio frente al tiempo.

En la tabla IV.8 se presentan los resultados de la comparación de los valores obtenidos al determinar la concentración de cadmio en cuatro muestras reales de agua de mar mediante el uso del sistema de membrana líquida y los obtenidos al realizar la inyección de varias diluciones de estas muestras en un espectrómetro de masas con plasma acoplado inductivamente.

Tabla IV.8. Concentración de cadmio, $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, en cuatro muestras de agua de mar.

Muestra	[Cd] _{ICP-MS} ± s	[Cd] _{BLM} ± s	ϵ_r , %	F	Test-F	t	Test -t
1 ^(a)	1,59 ± 0,03	1,53 ± 0,27	-3,78	81	Aceptado	0,42	Aceptado
2 ^(b)	1,24 ± 0,01	1,10 ± 0,20	-11,29	400	Rechazado	0,99	Aceptado
3 ^(c)	1,20 ± 0,02	1,28 ± 0,16	-6,67	2,07	Aceptado	2,16	Aceptado
4 ^(d)	1,83 ± 0,13	2,72 ± 0,30	+ 48,73	5,32	Aceptado	4,80	Rechazado

ϵ_r : error relativo; (a) $F_{(1,2)}=38,51$; $t_3=3,18$; (b) $F_{(1,2)}=38,51$; $t_1=12,71$; (c) $F_{(2,2)}=39$; $t_2=4,3$; (d) $F_{(1,2)}=799,5$; $t_3=3,18$

Como se observa en la tabla en la mayoría de los casos las concentraciones de cadmio obtenidas por ambos métodos fueron significativamente iguales, aunque de nuevo aparecen algunos errores relativos excesivamente altos debido a los inconvenientes que presenta el análisis y que ya se han descrito para los metales expuestos anteriormente.

4. Aluminio

En la figura IV. 24 se presenta el porcentaje de aluminio transportado a lo largo del tiempo a través de la membrana líquida utilizada para la preconcentración de cobre.

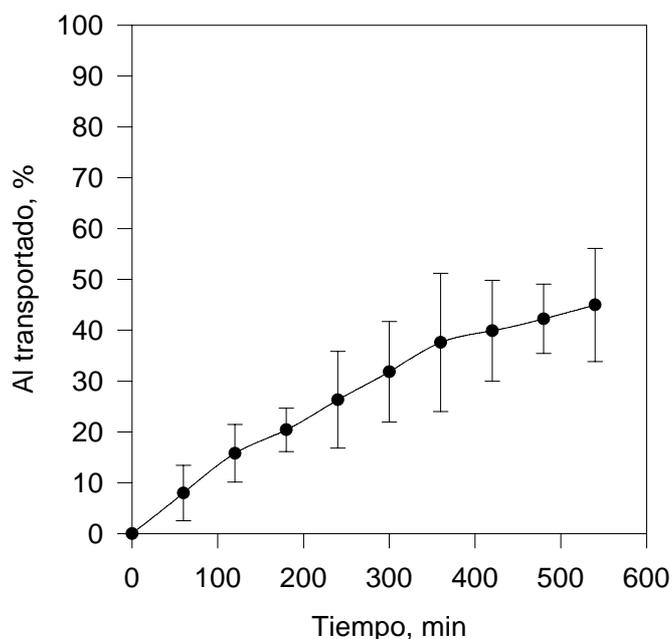


Figura IV.24. Variación del porcentaje de extracción de aluminio frente al tiempo.

Como se observa en la figura también para el aluminio, al igual que para el cadmio, se ha conseguido una mejor reproducibilidad, aunque después de las nueve horas de extracción no se observa claramente que se haya alcanzado el máximo porcentaje de aluminio que podría ser transportado. El porcentaje que se obtuvo al final del experimento fue del 44,97%, consiguiendo un factor de preconcentración final de 2,54 al aplicar la relación de volúmenes correspondiente a la celda utilizada.

Al igual que para los otros metales se utilizó el sistema de membrana líquida para determinar el contenido de aluminio presente en cuatro muestras reales de agua de mar, comparando los resultados obtenidos con aquellos determinados mediante la técnica de ICP-MS. Los resultados de dicha comparación, aplicando la prueba estadística F-Fisher de comparación de varianzas y la t-student de comparación de medias, se presentan en la tabla IV.9.

Tabla IV.9. Concentración de aluminio, en $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, en cuatro muestras de agua de mar.

Muestra	[Al] _{ICP-MS} ± s	[Al] _{BLM} ± s	ϵ_r , %	F	Test-F	T	Test -t
1	572,69	514,32 ± 110,30	-10,19	-	-	-	-
2 ^(a)	222,43 ± 29,34	212,44 ± 16,33	-4,49	3,23	Aceptado	0,42	Aceptado
3 ^(b)	167,07 ± 26,87	124,98 ± 29,51	+25,00	1,21	Aceptado	1,66	Aceptado
4 ^(c)	168,2 ± 25,63	186,48 ± 64,28	+10,87	6,29	Aceptado	0,46	Aceptado

ϵ_r : error relativo; (a) $F_{(2,1)}=799,5$; $t_2= 3,18$; (b) $F_{(1,2)}=38,51$; $t_3= 3,18$; (c) $F_{(2,2)}=39$; $t_4= 2,78$

En este caso cabe destacar que la prueba estadística aplicada no encuentra diferencias significativas entre las concentraciones de aluminio determinadas por ambos métodos, aunque de nuevo se observa algunos casos con errores relativos altos. A pesar de esto y como ya se ha dicho, el método de membranas líquidas optimizado para el análisis de cobre permite realizar un análisis preliminar del contenido de otros metales presentes en la muestra, como el aluminio.

5. Manganeso

En la figura IV.25 se muestra el transporte de manganeso que se produce a lo largo del tiempo cuando se utiliza el sistema de membrana líquida optimizado para la preconcentración de cobre en agua de mar.

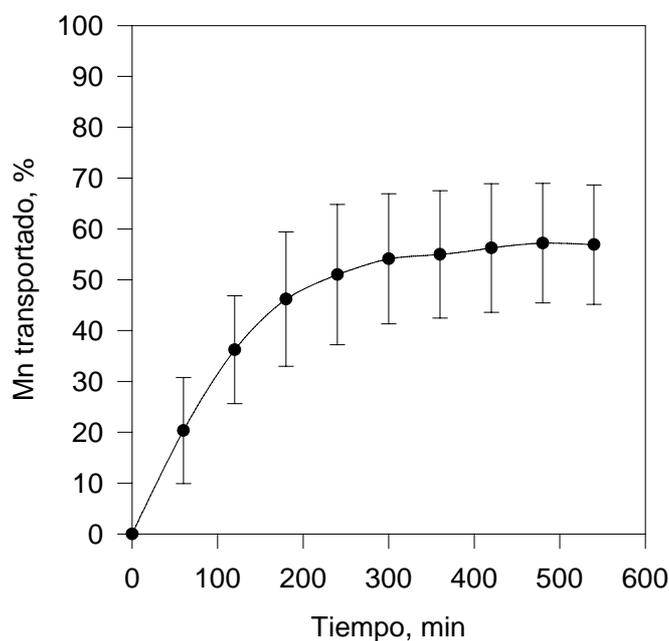


Figura IV.25. Variación del porcentaje de extracción de manganeso frente al tiempo.

En este caso se consiguió el máximo transporte después de siete horas, alcanzando el 56,79% del manganeso presente en la muestra. Este porcentaje, junto con la relación de volúmenes correspondiente a la celda utilizada se tradujo en un factor de preconcentración final de 3,21. Li y col. (1993) consiguieron hasta un 98 % de manganeso transportado, aunque no hay que olvidar que se trataba de muestras acuosas sintéticas. Soko y col. (2003) optimizaron una membrana soportada, con DEHPA en keroseno como fase orgánica, para la extracción de manganeso en muestras de agua, suero sanguíneo y leche. Estos autores consiguieron para el agua un transporte del 90% después de una hora con un pH de la muestra de 3 y una disolución receptora de 0,2 M de ácido nítrico, señalando la importancia que la matriz tenía sobre la eficiencia de extracción al obtener sólo un transporte del 40% para el suero y la leche en las mismas condiciones.

Al igual que para los otros metales estudiados, se determinó la concentración de manganeso en cuatro muestras reales de agua de mar mediante el análisis de varias diluciones de las muestras con un espectrómetro de masas con plasma acoplado

inductivamente y mediante el uso de la membrana líquida como paso previo para preconcentrar las muestras. A los resultados obtenidos por ambos métodos se les aplicó la prueba estadística t-Student de comparación de dos medias, y la F-Fisher para comparación de varianzas, para establecer si existía entre ellos diferencias significativas.

Tabla IV.10. Concentración de manganeso, en $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, en cuatro muestras de agua de mar.

Muestra	[Mn] _{ICP-MS} ± s	[Mn] _{BLM} ± s	ϵ_r , %	F	Test-F	t	Test -t
1	188,18	155,14 ± 4,78	-17,56	-	-	-	-
2	24,96 ± 2,77	54,94 ± 1,59	120	3,03	Aceptado	13,45	Rechazado
3 ^(a)	63,31 ± 2,49	63,26 ± 19,20	-0,08	59,46	Aceptado	0,01	Aceptado
4 ^(b)	62,66 ± 1,30	59,15 ± 9,69	-5,60	55,56	Rechazado	0,51	Aceptado

ϵ_r : error relativo; (a) $F_{(2,1)}=799,5$; $t_3= 3,18$; (b) $F_{(1,2)}=38,51$; $t_1= 12,71$

Como se observa en la tabla, excepto para una de las muestras probablemente debido a alguna contaminación de la misma, no existen diferencias significativas entre las concentraciones determinadas por ambos métodos, pudiendo destacar en este caso los bajos errores relativos obtenidos. Esto indica que el sistema de membrana líquida que se ha optimizado para el cobre es adecuado también para la determinación de manganeso en agua de mar, con la ventaja de que este metal alcanza su máximo transporte a las siete horas, aunque su factor de preconcentración, tal y como cabría esperar, es menor.

6. Níquel

En la figura IV.26 se muestran los resultados obtenidos del estudio del transporte de níquel a través del sistema de membrana líquida optimizado, como ya hemos indicado, para la preconcentración de cobre en agua de mar.

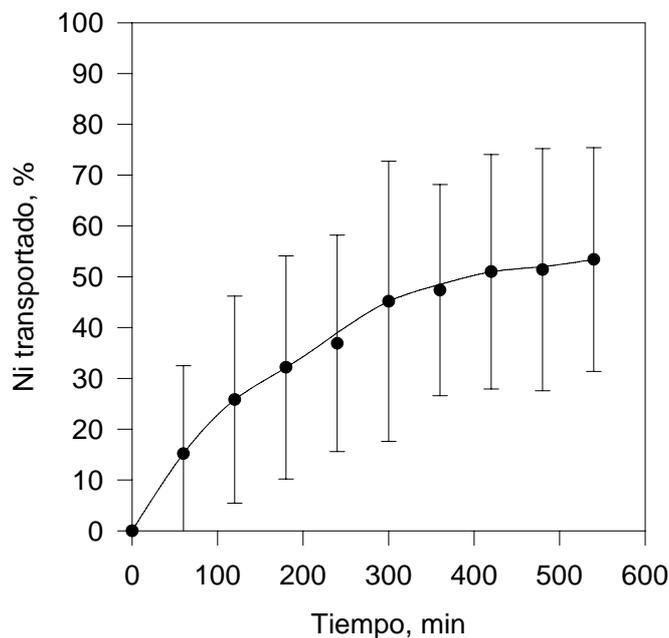


Figura IV.26. Variación del porcentaje de extracción de níquel frente al tiempo.

Como se observa en la figura este fue uno de los metales que presentaron mayor variabilidad en el transporte que se produce a través de la membrana líquida, finalizando prácticamente la extracción después de siete horas con una media del 51,93% del metal presente en la muestra. Este porcentaje junto con la relación de volúmenes de la celda utilizada da un factor de preconcentración total de 2,93.

También en este caso se aplicó el sistema de membrana líquida para determinar la concentración de níquel en cuatro muestras reales de agua de mar, comparando los resultados obtenidos con las concentraciones determinadas mediante la técnica de espectroscopía de masas con plasma acoplado inductivamente. Los resultados obtenidos al realizar la comparación de ambos mediante las pruebas estadísticas t-Student y F-Fisher se muestran en la tabla IV.11.

Tabla IV.11. Concentración de níquel en cuatro muestras de agua de mar.

Muestra	[Ni] _{ICP-MS} ± s	[Ni] _{BLM} ± s	ε _r	F	Test-F	t	Test -t
1 ^(a)	35,37 ± 19,20	28,18 ± 11,60	-20,33	2,74	Aceptado	0,45	Aceptado
2	17,69 ± 3,05	-	-	-	-	-	-
3 ^(b)	19,20 ± 0,45	28,27 ± 2,29	+47,23	25,90	Aceptado	6,73	Rechazado
4 ^(c)	21,40 ± 0,78	21,04 ± 5,49	-1,68	49,54	Rechazado	0,09	Aceptado

ε_r : error relativo; (a) F_(1,1)=647,8; t₂= 4,3; (b) F_(2,2)=39; t₄= 2,78; (c) F_(1,2)=38,51; t₃= 3,18

En este caso los resultados obtenidos muestran que, en general, existen importantes diferencias entre los dos métodos de análisis utilizados, ya que aunque en la mayoría de los casos el test estadístico prueba que no existen diferencias significativas los errores relativos calculados son muy elevados. En el trabajo de Li y col. (1993) este metal también presentó errores relativos altos (13%) cuando se comparaban los resultados obtenidos con la membrana líquida y aquellos obtenidos del análisis por espectroscopía de absorción atómica con atomización electrotérmica.

En este caso, el sistema de membrana líquida presentado para la determinación de cobre no es adecuado para cuantificar los contenidos de níquel en el agua de mar, aunque ofrece una vez más la oportunidad de obtener una idea previa del contenido de este metal presente en la muestra.

A modo de resumen se presentan en la tabla IV.12 los metales que se han podido extraer utilizando el sistema de membranas líquidas optimizado para la determinación de cobre y los porcentajes de transporte obtenidos, así como el error relativo medio cuando se compara con los resultados obtenidos a partir del análisis de las muestras con la técnica de espectroscopía de masas con plasma acoplado inductivamente.

Tabla IV.12. Metales que son transportados a través de la membrana líquida.

	Cantidad transportada (%)	Factor de preconcentración	Tiempo mínimo de extracción (h)	Error relativo (%)
Zinc	74,06	4,18	9	±10,14
Plomo	57,88	3,28	6	± 18,56
Cadmio	44,11	2,49	9	± 7,25
Aluminio	44,97	2,54	9	±12,64
Manganeso	56,79	3,21	7	± 7,75
Níquel	51,93	2,93	7	± 23,08

De los resultados obtenidos se puede concluir que el sistema de membranas líquidas optimizado para la extracción de cobre en agua de mar puede ser utilizado para la determinación cuantitativa de manganeso y cadmio, sin que presente errores significativos. En el caso de otros metales como aluminio, zinc, plomo y níquel las concentraciones determinadas mediante este sistema deben tomarse de forma aproximada, como una caracterización inicial de las muestras, pudiendo realizarse un análisis semicuantitativo de los mismos después de nueve horas de transporte.

CONCLUSIONES

1. Para obtener resultados reales de las concentraciones de elementos traza en aguas naturales es imprescindible el uso de técnicas limpias durante la toma de muestras y su posterior tratamiento y determinación analítica.
2. Para evitar la contaminación de las muestras durante el paso de preconcentración previo al análisis de metales minoritarios en agua de mar es recomendable realizar dicho paso en una sala blanca de ambiente controlado.
3. Durante el análisis de nutrientes la salinidad de la muestra afecta a la determinación de amonio, por lo que es preciso realizar rectas de calibrado que posean una matriz similar a las muestras, mientras que en el caso de nitritos, nitratos y fosfatos pueden usarse patrones acuosos simples.
4. Para la determinación de manganeso en aguas salinas mediante la técnica de absorción atómica con horno de grafito es necesario utilizar la técnica de calibrado de adiciones estándar y la corrección de fondo basada en el efecto Zeeman.

5. Para la determinación de cobre en aguas salinas mediante la técnica de absorción atómica con horno de grafito es necesario utilizar la técnica de calibrado de adiciones estándar, aunque fue suficiente la corrección de fondo con lámpara de deuterio para conseguir resultados exactos.
6. Para la determinación de metales traza mediante la técnica de ICP-MS es necesario el uso de patrones internos, obteniéndose buenos resultados con itrio para el cadmio, zinc, cobalto y níquel, y bismuto para el caso del plomo.
7. Basándose en los estudios realizados no se aprecian diferencias estacionales en las características de las aguas del río Guadalquivir.
8. Los aumentos en las concentraciones de amonio, nitritos, cobalto y manganeso en las aguas del río Guadalquivir se han relacionado con la existencia de estaciones de tratamiento de aguas residuales urbanas y otras actividades relacionadas con núcleos de población.
9. Las altas concentraciones de nitratos existentes en las aguas del río Guadalquivir no permiten establecer una dependencia clara de esta variable con una de las actividades desarrolladas en el río, relacionando su concentración con las dos actividades predominantes en la zona: urbanas y agrícolas.
10. La disminución de oxígeno disuelto en el área urbana se relacionó con la existencia de procesos oxidativos debidos a la existencia de materia orgánica y amonio procedentes de las estaciones de tratamiento de aguas residuales. Por otro lado, su aumento en la zona estuárica se relaciona con la entrada de agua procedente del Golfo de Cádiz.
11. Los aumentos en las concentraciones de sólidos en suspensión y fosfatos en la zona central del río han sido relacionados con las actividades agrícolas presentes en la cuenca.

12. Los aumentos en la concentración de níquel en las aguas del río Guadalquivir se relacionan tanto con la existencia de actividades agrícolas como urbanas, aunque son las primeras las que mayor influencia ejercen sobre las concentraciones de este elemento en la zona de estudio.
13. El cadmio presentó concentraciones muy similares en toda la zona fluvial independientemente de las actividades antropogénicas realizadas en la cuenca y aumentando su concentración al aumentar la salinidad, lo que sugiere un control natural de este elemento en la zona de estudio.
14. El plomo presentó un comportamiento único en la zona de estudio, con una gran variabilidad espacial que no permite establecer con claridad su relación con las actividades existentes en el río.
15. Las variables más influenciadas por la entrada de agua salina en la desembocadura fueron pH, oxígeno disuelto, manganeso y cadmio.
16. Las variables que disminuyeron su concentración al aumentar la salinidad fueron sólidos en suspensión, fosfatos, amonio, nitritos, nitratos, níquel, cobalto, zinc y cobre, identificando al río Guadalquivir como una vía de entrada de estos elementos al Golfo de Cádiz.
17. Las concentraciones de todas las variables, excepto los nitratos, cumplieron los valores guía establecidos por la Junta de Andalucía en la orden del 14 de febrero de 1997 por la que se clasifican las aguas litorales andaluzas y se establecen los objetivos de calidad de las aguas afectadas directamente por los vertidos.
18. La utilización de un sistema de membranas líquidas de volumen basado en el transporte de cobre mediante el uso del ácido di-2-etilhexil fosfórico ha permitido realizar su preconcentración en agua de mar y posterior determinación con una técnica sencilla y de sensibilidad media como la espectroscopía de absorción atómica en llama.

19. La optimización univariante del sistema de membranas líquidas para la preconcentración de cobre en agua de mar consiguió un factor de preconcentración final de 1,43 después de tres horas, y la optimización simplex consiguió un factor de preconcentración final de 4,30 después de nueve horas.

20. La aplicación del sistema de membranas líquidas optimizado para la preconcentración de cobre en agua de mar fue útil para realizar la determinación semicuantitativa de zinc, plomo, cadmio, aluminio, manganeso y níquel.

ANEXOS

(página en blanco intencionadamente)

ANEXO 1

Reactivos, disoluciones, instrumentación analítica y materiales

Reactivos

- Acetato amónico ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$): P.A., Merck (Alemania)
- Ácido acético glacial (CH_3COOH): P.A., Merck (Alemania)
- Ácido L(+) ascórbico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$): P.A., Merck (Alemania)
- Ácido bórico (H_3BO_3): P.A., Merck (Alemania)
- Ácido clorhídrico 37% (HCl): P.A., Merck (Alemania)
- Ácido clorhídrico 37% (HCl): Suprapure, Merck (Alemania)
- Ácido di-2-hetilexilfosfórico 97% ($\text{C}_{16}\text{H}_{35}\text{O}_4\text{P}$): Sigma-Aldrich (Alemania)
- Ácido etilendiamintetraacético, EDTA, sal disódica, dihidrato ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$): P.A., Scharlab (España)
- Ácido nítrico 65% (HNO_3): P.A., Merck (Alemania)
- Ácido nítrico 65% (HNO_3): Suprapure, Merck (Alemania)
- Ácido sulfúrico 97% (H_2SO_4): P.A., Merck (Alemania)
- Bicarbonato sódico (NaHCO_3): P.A., Merck (Alemania)
- Bromuro potásico (KBr): P.A., Merck (Alemania)
- Cadmio metálico 0,3-1,6 mm (Cd): Merck (Alemania)
- Cloroformo (CHCl_3): P.A., Merck (Alemania)
- Cloruro amónico (NH_4Cl): P.A., Merck (Alemania)
- Cloruro de calcio dihidratado ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$): P.A., Merck (Alemania)
- Cloruro de estroncio hexahidratado ($\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$): P.A., Merck (Alemania)
- Cloruro de magnesio hexahidratado ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$): P.A., Merck (Alemania)
- Cloruro potásico (KCl); P.A., Merck (Alemania)
- Cloruro sódico (NaCl): P.A., Merck (Alemania)
- Citrato de trisodio ($\text{C}_6\text{O}_7\text{H}_5\text{Na}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$): P.A., Merck (Alemania)
- Dietilamonio dietilditiocarbamato (DDDC) ($\text{C}_9\text{H}_{22}\text{N}_2\text{S}_2$): Scharlab (España)
- Etanol 96% ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$): P.A., Merck (Alemania)
- Fenol ($\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$): P.A., Merck (Alemania)
- Fluoruro sódico (NaF): P.A., Merck (Alemania)
- Hidróxido amónico 30% (NH_4OH): P.A., Merck (Alemania)
- Hidróxido amónico 30% (NH_4OH): Suprapure, Merck (Alemania)

- Hidróxido sódico (NaOH): P.A., Merck (Alemania)
- Hipoclorito sódico disolución 5% p/v (NaClO): P.A., Sharlab (España)
- Heptamolibdato de amonio tetrahidratado ((NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O): P.A., Merck (Alemania)
- Keroseno: Purum, Fluka (Alemania)
- Metanol (CH₃OH): P.A., Merck (Alemania)
- N-1-naftil-etilendiamina diclorhidrato (C₁₂H₁₆Cl₂N₂): P.A., Merck (Alemania)
- Nitrato potásico (KNO₃): P.A., Merck (Alemania)
- Nitrito sódico (NaNO₂): P.A., Merck (Alemania)
- Potasio dihidrogenofosfato (KH₂PO₄): P.A., Merck (Alemania)
- 1-pirrodil ditiocarbamato de amonio (APDC) (C₅H₈NS₂NH₄): Fluka (Alemania)
- Sodio nitroprusiato dihidratado (Na₂Fe(CN)₅NO·2H₂O): P.A., Merck (Alemania)
- Sulfanilamida (C₆H₈N₂O₂S): P.A., Merck (Alemania)
- Sulfato de cobre (II) pentahidratado (CuSO₄·5H₂O): P.A., Merck (Alemania)
- Sulfato sódico (Na₂SO₄): P.A., Merck (Alemania)
- Tartrato doble de antimonio y potasio (C₄H₄KO₇Sb·0,5H₂O): P.A., Merck (Alemania)

Disoluciones patrón

- Aluminio: 1,000 ± 0,002 g·L⁻¹ en 2-3% HNO₃, ICP-MS, Merck (Alemania)
- Cadmio: 1,000 ± 0,002 g·L⁻¹ en 0,5 M HNO₃, AAS, Merck (Alemania)
- Cobalto: 1,000 ± 0,002 g·L⁻¹ en 2,5% HNO₃, ICP-MS, Panreac (España)
- Cobre: 1,000 ± 0,002 g·L⁻¹ en 2-3% HNO₃, ICP-MS, Merck (Alemania)
- Cromo: 1,000 ± 0,002 g·L⁻¹ en 0,5 M HNO₃, AAS, Merck (Alemania)
- Hierro: 1,000 ± 0,002 g·L⁻¹ en 0,5 M HNO₃, AAS, Merck (Alemania)
- Níquel: 1,000 ± 0,002 g·L⁻¹ en 2,5% HNO₃, ICP-MS, Panreac (España)
- Manganeso: 1,000 ± 0,002 g·L⁻¹ en 2,5% HNO₃, ICP-MS, Panreac (España)
- Plata: 1,000 ± 0,002 g·L⁻¹ en 0,5 M HNO₃, AAS, Merck (Alemania)
- Plomo: 1,000 ± 0,002 g·L⁻¹ en 2,5% HNO₃, ICP-MS, Panreac (España)
- Zinc: 1,000 ± 0,002 g·L⁻¹ en 0,5 M HNO₃, AAS, Merck (Alemania)
- Patrón interno multielemental (⁶Li, ⁴⁵Sc, ⁸⁹Y, ¹¹⁵In, ¹⁵⁹Tb, ¹⁶⁵Ho, ²⁰⁹Bi): 10 g·L⁻¹ en 2% HNO₃, ICP-MS, AccuStandar Inc. (EE.UU.)

*Disoluciones*1. Agua de mar sintética 35 de salinidad, 1 L (Grasshoff, 1983):

- NaCl: 23,939 g
- MgCl₂·6H₂O: 10,8254 g
- Na₂SO₄: 3,9940 g
- CaCl₂·2H₂O: 1,4946 g
- KCl: 0,6770 g
- NaHCO₃: 0,1960 g
- KBr: 0,098 g
- H₃BO₃: 0,027 g
- SrCl₂·6H₂O: 0,024 g
- NaF: 0,003 g

2. Cloroformo para extracción de metales en agua de mar

El cloroformo debe limpiarse antes de utilizarlo para las extracciones de metales en agua de mar y para la preparación de las disoluciones descritas a continuación. Esta limpieza se lleva a cabo en una campana limpia y se realiza siguiendo estos pasos:

- Se llena una botella de teflón con cloroformo, dejando vacío un espacio de 1 pulgada que se completa con agua milli-Q.
- Se agita con fuerza y se echa fuera el agua apretando la botella (en una campana limpia). Repetir al menos 4 veces.

3. Disolución de APDC/DDDC para extracción de metales en agua de mar

- Tarar un embudo de separación de teflón de 125 ml y pesar como mínimo 1,5 g de APDC y otros 1,5 g de DDDC dentro del embudo usando una espátula de teflón. Llevar a 100 mL con agua milliQ.
- Añadir 1 mL de hidróxido amónico para estabilizar el ligando.
- Limpiar la disolución por extracción con cloroformo.
 - Añadir 5 mL de cloroformo, agitar durante 2 minutos y dejar separar 5 min. Sacar el cloroformo al bote de residuos y repetir dos veces usando 3 mL de cloroformo.

- Transferir la disolución a un bote de teflón de 60 mL enjuagando primero el frasco con la disolución.
 - Añadir 500 µL de cloroformo. La disolución es útil por tres días a temperatura ambiente.
4. Acetato amónico para extracción de metales en agua de mar
- En una botella de 1L de polietileno prepara una disolución saturada de acetato amónico usando agua milli-Q.
 - Limpiar la disolución mediante extracción con cloroformo y APDC/DDDC.
 - Tomar 250 mL de la disolución en un embudo de decantación y añadir 1 mL APDC/DDDC y 8 mL de cloroformo. Agitar 2 min y dejar separar 5 min. Repetir 2 veces usando 6 mL de cloroformo.
 - Almacenar la disolución de acetato amónico a una botella de polietileno.

Instrumentación analítica

- Agitador magnético, Agimat-S, Selecta (España)
- Balanza AA-160, Denver Instrument Company (EE.UU.)
- Bomba peristáltica Masterflex L/S, Standard Drive, Cole-Parmer (EE.UU.)
- Bomba peristáltica, Perimax 12, Spetec (Alemania)
- Cabezales Easy-Load Masterflex, mod. 7518-10, Cole-Parmer (EE.UU.)
- Campana de flujo laminar con filtro absoluto HEPA, Crumair 9005-FL, Cruma (España)
- Campana de flujo laminar con filtro ULPA, Series CSB (Clase II según EN12469): EuroAire, TDI s.a. (España)
- Espectrofotómetro UV-VIS, Lambda 11, Perkin Elmer (EE.UU.)
- Espectrofotómetro de absorción atómica, SolaarM, Thermo (Reino Unido)
- Espectrómetro de masas con plasma acoplado inductivamente, Series X-7, Thermo (Reino Unido)
- Estufa Contern Cod. 2000209, Selecta (España)
- Micropipetas de volumen variable, Wheaton, Aldrich (EE.UU.)

- Micropipetas de volumen fijo, Pipetman F, Gilson (Francia)
- Conductímetro-pHmetro 4330, Jenway (Reino Unido)
- Sonda multiparamétrica portátil (pH, T^a, Conductividad, oxígeno disuelto), Sension 156, Hach (EE.UU.)
- Válvula de inyección, Modelo 1106, Omnifit (Reino Unido)

Materiales

- Botes de polietileno de baja densidad, diferentes volúmenes, Azlon Bibby (Reino Unido)
- Cápsulas de filtración Calyx de 0,5 μm , Osmonic Inc. (EE.UU.)
- Columna cromatográfica 25x100 mm, Omnifit (Reino Unido)
- Cubetas de cuarzo de 1 y 5 cm de paso de luz, Starna Ltd. (EE.UU.)
- Cubetas de cuarzo de 1 cm de paso de luz para flujo continuo, Hellma (Alemania)
- Embudos de separación de Teflón, Nalgen Nunc. International, Cole-Parmer (EE.UU.)
- Filtros de nylon de 0,5 μm , Millipore (EE.UU.)
- Matraces aforados de vidrio, diferentes volúmenes, Afora (España)
- Matraces aforados de polipropileno, diferentes volúmenes, Albus (España)
- Pipetas de vidrio, diferentes volúmenes, Afora (España)
- Tubos C-Flex, Cole-Parmer (EE.UU.)
- Tubos de Teflón, Cole-Parmer (EE.UU.)
- Tubos transportadores para flujo en continuo, PTFE, Omnifit (Reino Unido)
- Vidrios de reloj, Afora (España)

ANEXO 2

Tabla de resultados de las variables determinadas en las aguas del río Guadalquivir

Las tablas que se presentan a continuación contienen los datos obtenidos de cada variable determinada en las aguas del río Guadalquivir y para cada una de las estaciones de muestreo así como para cada toma de muestras.

Cada una de las filas se ha numerado correlativamente siguiendo el orden de las estaciones de muestreo y de las tomas de muestra realizadas para encontrar con mayor facilidad aquellos casos concretos a los que se hace referencia en el texto.

Los datos que se encontraron por debajo del límite de detección del método se expresan en la tabla como <L.D.

Las unidades en las que aparece expresada cada variable son:

Conductividad: $\text{mS}\cdot\text{s}^{-1}$

O.D. (Oxígeno disuelto): $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$

s.s. (Sólidos en suspensión): $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$

NO_3^- : $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de nitrógeno nítrico

NO_2^- : $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de nitrógeno nitroso

NH_4^+ : $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de nitrógeno amoniacal

PO_4^{3-} : $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de fosfato fosfórico

Cu, Mn, Ni, Zn: $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

Co, Pb, Cd: $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$

n° caso	Estación	Muestreo	Conductividad	pH	O.D.	s.s.	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	PO ₄ ³⁻	Cu	Mn	Co	Ni	Zn	Cd	Pb
1	G-1	1	1,10	7,79	-	59,37	6,39	140,27	78,37	73,57	2,26	17,75	156,58	2,16	1,40	7,55	80,29
2	G-2	1	1,05	8,01	-	85,02	4,77	129,78	80,07	73,57	2,08	22,91	99,06	1,24	<0,15	2,29	31,67
3	G-3	1	1,03	7,97	-	99,90	4,59	129,20	77,71	63,33	2,16	26,73	133,64	2,29	0,65	8,33	78,54
4	G-4	1	1,00	7,95	-	66,42	4,52	128,62	76,07	60,66	2,23	28,58	141,73	2,23	0,35	8,49	62,84
5	G-5	1	0,93	8,00	-	68,62	4,31	137,36	75,57	75,51	2,52	36,09	163,94	1,91	<0,15	3,11	30,66
6	G-6	1	0,97	7,73	-	26,92	7,31	171,14	86,92	76,19	2,19	21,99	<14,00	1,18	0,32	6,77	21,30
7	G-7	1	1,00	7,88	-	106,67	4,47	125,29	89,58	73,61	2,09	24,57	130,54	2,32	1,02	6,81	80,05
8	G-8	1	0,97	7,91	-	228,75	4,42	206,81	82,87	96,29	1,87	51,28	201,32	1,83	<0,15	3,05	49,92
9	G-9	1	0,97	7,84	-	191,25	4,07	420,75	113,13	111,45	1,70	30,35	93,23	3,23	1,33	18,02	46,50
10	G-10	1	0,95	7,86	-	56,42	4,25	276,92	115,52	90,61	1,59	28,87	113,17	2,50	0,33	5,24	56,08
11	G-11	1	0,92	7,78	-	163,00	4,01	275,47	129,13	72,17	2,34	21,38	177,19	2,02	<0,15	1,36	49,45
12	G-12	1	0,97	7,75	-	111,16	3,89	389,40	129,41	109,65	1,96	16,47	117,48	3,07	0,54	5,63	61,17
13	G-13	1	1,30	7,34	-	438,33	6,51	231,30	278,22	75,04	2,09	6,34	<14,00	2,69	1,23	1,87	57,71
14	G-15	1	1,37	7,68	-	232,50	4,13	186,37	328,02	84,46	2,77	3,76	<14,00	2,84	0,66	5,63	58,17
15	G-17	1	10,63	7,83	-	137,50	2,22	38,76	162,44	65,81	2,65	31,36	183,06	2,72	-	39,96	52,17
16	G-21	1	29,70	7,80	-	197,50	3,82	82,43	69,98	38,20	2,00	39,02	301,28	1,80	2,85	49,72	340,04
17	G-1	2	0,92	7,36	-	56,00	-	215,42	70,65	85,29	3,07	37,79	277,86	2,97	0,77	6,97	48,84
18	G-2	2	0,74	7,51	-	107,00	4,35	286,18	38,64	93,12	2,05	56,51	181,17	1,71	0,18	4,22	34,11
19	G-3	2	0,71	7,58	-	112,00	3,85	298,92	51,62	93,85	1,66	56,39	235,83	2,54	0,53	4,15	84,90
20	G-4	2	0,71	7,66	-	95,83	3,43	293,57	55,54	101,70	1,63	40,30	180,00	1,83	0,20	3,54	30,96
21	G-5	2	0,68	7,70	-	102,50	-	326,35	64,84	116,05	1,46	36,09	223,89	1,50	-	2,70	73,30
22	G-6	2	1,05	7,75	-	67,97	4,17	333,83	151,04	84,04	1,26	77,98	429,36	2,77	1,69	5,44	74,95
23	G-7	2	1,08	7,90	-	51,71	4,12	328,09	178,27	88,05	1,29	60,90	302,50	2,24	0,87	4,23	83,39
24	G-8	2	1,27	7,66	-	-	5,11	178,98	287,87	71,17	1,56	-	296,14	2,99	0,87	5,61	70,20
25	G-9	2	1,51	7,63	-	73,25	5,99	-	327,50	104,66	1,82	25,66	186,07	2,75	0,87	3,68	99,42
26	G-10	2	1,55	7,59	-	63,33	5,72	-	317,22	108,07	1,78	28,07	177,48	3,15	0,89	5,19	82,42
27	G-11	2	1,52	7,20	-	62,50	5,39	21,65	258,86	121,58	2,29	11,95	122,43	2,51	1,47	4,87	75,20
28	G-12	2	1,70	7,52	-	53,33	4,79	26,27	166,17	135,53	2,01	14,36	124,43	2,81	3,19	5,70	74,99
29	G-13	2	1,73	7,70	-	61,66	5,51	<4,80	29,85	203,23	2,57	4,65	106,56	3,09	1,66	10,27	87,11
30	G-15	2	6,18	7,98	-	73,21	3,35	<4,80	4,17	171,76	3,95	6,54	<14,00	1,30	1,07	7,88	37,04
31	G-17	2	12,17	7,94	-	28,63	2,18	<4,80	5,33	140,86	3,67	7,01	34,40	2,59	3,09	11,22	69,08

n° caso	Estación	Muestreo	Conductividad	pH	O.D.	s.s.	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	PO ₄ ³⁻	Cu	Mn	Co	Ni	Zn	Cd	Pb
32	G-19	2	12,83	8,02	-	18,59	2,45	<4,80	6,1	138,44	4,05	4,57	34,50	2,15	0,85	9,16	43,81
33	G-21	2	21,6	7,98	-	23,85	2,07	<4,80	4,62	126,8	3,27	7,91	<14,00	1,74	0,68	13,71	53,64
34	G-24	2	49,9	8,08	-	26,25	0,35	<4,80	3,62	42,94	2,09	15,94	<14,00	0,04	1,25	25,18	289,39
35	G-25	2	36,5	-	-	21,22	-	<4,80	4,37	72,39	2,74	13,53	<14,00	0,85	1,37	27,09	359,29
36	G-1	3	0,94	7,86	-	28,33	11,04	163,25	174,48	44,68	2,82	26,4	129,48	2,12	2,51	4,81	49,25
37	G-2	3	1,1	7,85	-	88,66	7,34	112,11	175,02	35,66	2,34	27,44	175,51	2,92	1,60	7,68	79,70
38	G-3	3	1,11	7,78	-	59,28	6,92	335,46	177,32	64,95	1,98	33,93	188,37	2,20	1,04	4,50	70,51
39	G-4	3	0,84	7,71	-	77,83	3,96	223,59	94,06	64,45	1,61	36,41	137,82	1,74	0,96	14,67	41,91
40	G-5	3	1,02	7,76	-	79,17	6,1	305,89	166,5	62,2	1,62	40,64	240,19	2,16	0,84	3,46	70,83
41	G-6	3	1,1	7,72	-	66,67	6,29	824,76	223,62	-	1,37	43,06	347,05	2,90	1,32	4,48	148,29
42	G-7	3	1,2	7,71	-	136,75	7,33	945,08	243,43	130,17	1,12	51,19	304,51	2,36	3,48	8,91	136,80
43	G-8	3	1,22	7,55	-	167	6,36	373,91	287,03	126,16	1,26	45,4	296,14	2,99	0,87	5,61	138,81
44	G-9	3	1,21	7,5	-	218,75	6,71	98,94	249,03	196,35	1,74	38,05	250,44	2,80	1,85	9,58	163,38
45	G-10	3	1,23	7,58	-	193,75	6,5	57,19	85,72	188,34	1,96	20,53	177,48	3,15	0,89	5,19	148,15
46	G-11	3	1,24	7,51	-	198,75	6,38	<4,80	51,28	134,4	2,07	12,6	143,00	2,64	2,16	12,03	264,93
47	G-12	3	1,42	7,62	-	355	6,2	<4,80	18,44	134,4	2,24	9,63	45,35	3,24	6,72	8,57	129,29
48	G-13	3	1,4	7,73	-	159,99	5,06	<4,80	3,99	107,19	2,48	3,73	113,8	2,07	2,88	13,81	111,21
49	G-15	3	10,77	7,82	-	123	2,65	44,24	14,72	379,63	7,4	60,70	790,62	4,63	5,64	20,53	2267,72
50	G-17	3	13,38	7,85	-	66,87	2,92	-	16,43	168,31	3,5	20,87	328,01	3,07	2,50	18,22	798,68
51	G-21	3	27	8	-	110,62	2,06	<4,80	9,32	111,08	3,16	18,52	514,33	3,97	3,35	34,19	1236,21
52	G-22	3	42	8,08	-	80,58	0,7	<4,80	6,8	93,67	2,61	22,44	397,67	2,93	3,00	42,90	935,16
53	G-25	3	45,5	8,12	-	66,67	2,81	<4,80	4,77	47,45	2,09	13,29	258,95	1,58	1,46	36,59	438,19
54	G-26	3	50,7	8,2	-	13,6	1,95	<4,80	0,98	6,09	1,29	3,91	55,01	0,64	0,99	34,08	103,79
55	G-1	4	1,37	7,95	6,18	15	10,55	198,93	126,75	40,95	1,17	4,83	76,87	2,16	2,35	7,36	63,86
56	G-2	4	1,3	7,86	4,99	34,37	7,33	188,93	135,22	30,24	1,07	11,00	67,20	1,98	0,32	6,41	13,13
57	G-3	4	1,25	7,82	4,35	46,28	6,83	224,43	142,03	46,19	1,08	17,62	101,42	1,83	0,26	4,42	66,43
58	G-4	4	1,18	7,78	5,14	56,74	6,37	204,93	150,36	48,09	0,95	33,82	153,46	2,01	0,29	5,64	24,49
59	G-5	4	1,14	7,70	4,59	101,00	5,66	353,50	165,93	78,51	0,86	50,74	161,04	1,72	<0,15	3,64	82,10
60	G-6	4	1,12	7,49	1,96	51,83	5,60	480,10	412,72	154,25	0,74	134,65	268,52	1,84	0,39	5,30	32,02
61	G-7	4	1,15	7,51	1,52	45,83	5,77	496,06	440,46	175,11	0,82	102,94	160,23	1,89	0,53	8,05	59,67
62	G-8	4	1,22	7,56	1,82	62,00	7,04	22,12	104,34	166,23	1,42	18,03	95,52	3,10	1,82	9,52	66,21

n° caso	Estación	Muestreo	Conductividad	pH	O.D.	s.s.	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	PO ₄ ³⁻	Cu	Mn	Co	Ni	Zn	Cd	Pb
63	G-9	4	1,61	7,70	2,93	134,58	4,54	<4,80	17,50	158,51	1,85	1,94	46,20	2,51	1,10	7,06	83,61
64	G-10	4	1,78	7,78	3,27	180,00	3,70	<4,80	4,00	144,42	2,19	1,16	107,91	3,62	1,17	10,03	66,56
65	G-11	4	1,48	7,77	5,71	201,67	4,80	<4,80	24,41	173,54	2,22	1,51	43,62	3,05	1,44	8,79	104,64
66	G-12	4	1,83	7,88	5,96	233,33	3,08	<4,80	4,56	150,99	2,48	4,44	118,38	3,24	2,35	10,01	148,97
67	G-13	4	3,91	7,98	7,08	145,00	2,69	<4,80	4,57	133,34	4,00	1,06	64,85	3,53	0,75	7,38	88,80
68	G-14	4	19,79	7,92	6,70	119,50	1,67	<4,80	17,01	106,70	4,63	1,34	42,51	1,50	1,79	34,96	43,70
69	G-15	4	14,25	7,96	7,11	80,29	1,52	<4,80	24,90	94,84	3,93	2,29	55,11	2,21	0,91	14,22	93,24
70	G-16	4	23,9	7,96	6,19	48,40	1,14	<4,80	25,55	77,60	4,46	1,23	31,10	1,59	1,14	22,77	50,80
71	G-18	4	30,8	7,95	6,85	38,52	1,26	<4,80	29,32	82,42	4,16	1,92	30,15	2,17	1,27	27,90	60,28
72	G-20	4	36,6	7,99	7,33	24,50	0,86	<4,80	21,87	65,04	3,44	2,33	43,31	1,03	3,26	54,19	56,61
73	G-22	4	41,00	7,99	7,70	24,47	1,70	<4,80	19,09	52,68	1,67	3,82	<14,00	0,94	2,16	37,75	49,73
74	G-23	4	46,40	8,06	7,45	19,54	0,35	<4,80	9,89	39,27	2,55	4,85	22,20	1,79	1,76	37,47	56,16
75	G-24	4	49,80	8,15	7,35	19,12	0,06	<4,80	4,37	21,59	1,75	2,47	<14,00	0,02	2,03	52,76	33,59
76	G-25	4	50,50	-	8,44	14,35	0,03	<4,80	2,79	23,67	1,93	1,86	<14,00	0,10	1,84	70,23	27,11
77	G-1	5	1,41	7,94	8,64	30,35	8,46	121,53	145,84	74,08	3,72	29,55	316,55	2,89	0,61	16,90	57,69
78	G-2	5	1,44	7,86	7,80	64,33	7,10	241,22	139,20	87,17	3,09	33,40	314,20	2,60	0,42	5,28	55,49
79	G-3	5	1,38	7,84	8,20	61,00	6,26	389,19	135,55	86,22	2,45	34,29	193,62	2,43	0,33	5,26	62,50
80	G-4	5	1,36	7,80	7,52	53,33	5,28	224,12	130,68	83,12	2,36	30,63	209,52	2,46	0,35	4,49	67,70
81	G-5	5	1,32	7,77	7,28	40,83	6,20	261,88	176,50	114,40	2,24	22,60	233,49	2,59	0,34	3,73	57,34
82	G-6	5	1,30	7,64	5,72	70,50	5,90	-	243,58	112,06	2,16	19,30	106,87	2,56	0,63	4,55	82,40
83	G-7	5	1,28	7,61	5,39	45,83	5,74	381,18	260,24	115,81	2,16	17,35	133,59	2,72	0,58	5,47	91,08
84	G-8	5	1,17	7,52	5,07	53,33	5,83	101,71	198,95	108,77	2,31	12,54	141,82	2,75	1,07	4,68	112,80
85	G-9	5	1,18	7,50	4,55	34,16	7,15	19,71	60,64	161,15	2,44	11,03	58,25	2,96	1,17	5,37	164,03
86	G-10	5	1,19	7,53	4,51	73,00	6,89	23,59	37,83	151,56	2,44	8,41	57,90	2,83	1,12	4,96	137,23
87	G-11	5	1,37	7,71	6,32	261,66	6,50	29,90	10,22	109,07	3,27	1,58	83,46	2,81	0,99	5,62	99,08
88	G-12	5	1,43	7,79	7,10	150,00	5,68	-	9,18	108,16	3,48	0,81	74,57	2,58	1,26	6,05	134,52
89	G-13	5	5,28	7,82	7,40	163,33	4,16	<4,80	6,03	112,71	3,06	0,44	<14,00	1,75	1,48	29,55	67,43
90	G-15	5	9,63	7,83	8,15	97,50	4,14	<4,80	5,40	100,56	4,67	1,06	40,63	1,79	1,21	15,86	55,82
91	G-16	5	10,71	7,85	7,40	40,27	2,63	<4,80	5,29	80,6	4,26	2,21	66,51	1,86	1,95	52,63	194,15
92	G-17	5	17,83	8,01	10,69	52,32	4,42	41,87	3,02	18,96	1,58	1,56	54,16	1,45	3,02	22,92	50,80
93	G-21	5	25,60	8,04	9,14	52,50	2,46	14,69	5,29	41,45	2,87	-	109,38	1,20	4,40	43,27	160,54

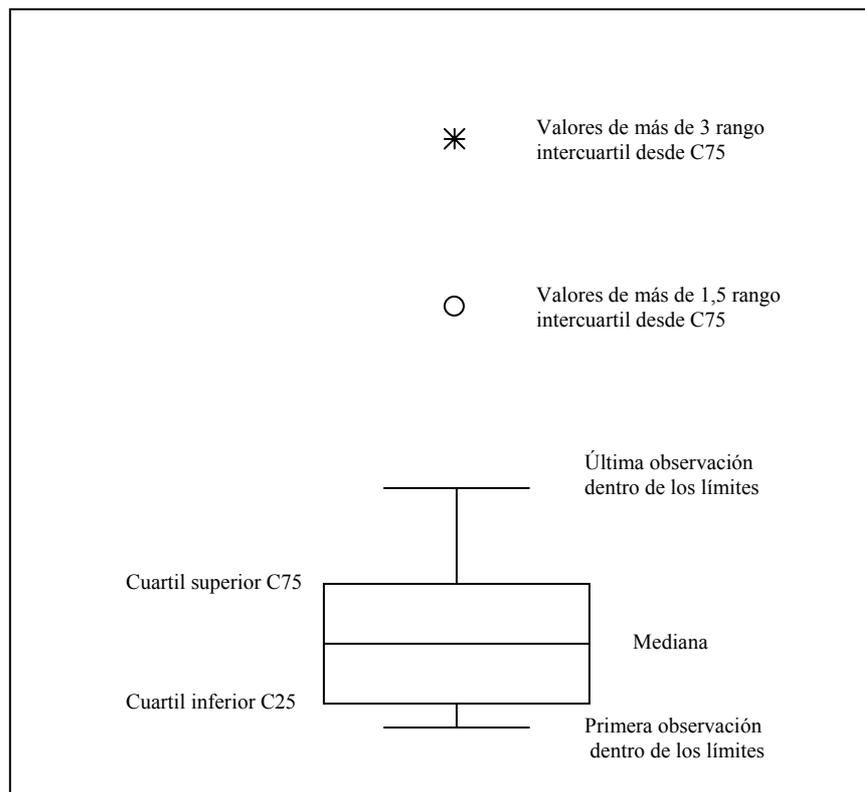
n° caso	Estación	Muestreo	Conductividad	pH	O.D.	s.s.	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	PO ₄ ³⁻	Cu	Mn	Co	Ni	Zn	Cd	Pb
94	G-23	5	31,60	8,08	10,81	71,51	1,67	30,88	9,05	81,07	2,70	1,94	133,46	1,38	4,22	36,77	187,33
95	G-24	5	41,90	8,21	-	54,09	0,97	5,61	8,66	52,88	1,00	2,98	107,75	1,90	4,19	18,37	109,37
96	G-25	5	44,70	8,26	-	42,25	0,81	< 4,80	4,43	24,1	-	2,25	91,75	0,24	3,18	45,48	166,51
97	G-1	6	1,07	7,75	8,32	-	5,92	181,36	117,08	43,81	3,68	40,79	246,93	2,91	1,07	6,97	121,62
98	G-2	6	0,96	7,73	7,42	97,61	4,71	139,09	104,11	42,86	3,73	30,06	178,43	2,84	0,39	6,77	102,08
99	G-3	6	0,96	7,64	7,26	295,00	4,73	172,73	97,76	46,19	3,64	26,88	163,64	3,04	0,34	7,39	107,94
100	G-4	6	0,97	7,67	7,48	162,37	5,10	152,67	94,68	58,57	3,33	19,95	123,00	2,53	0,32	6,82	87,39
101	G-5	6	0,98	7,72	8,00	368,33	4,87	152,67	99,41	60,48	3,87	16,15	122,44	2,99	0,55	8,01	95,59
102	G-6	6	0,96	7,54	6,42	311,00	4,34	242,67	141,03	91,43	3,40	11,06	107,57	2,69	0,50	7,60	112,54
103	G-7	6	0,97	7,68	6,06	137,86	6,02	228,50	133,68	99,81	3,34	10,36	110,10	2,55	1,25	7,64	153,93
104	G-8	6	0,93	7,51	3,48	295,80	4,96	133,50	83,41	106,95	3,54	19,62	208,33	2,99	1,73	9,73	436,57
105	G-9	6	0,87	7,65	3,93	800,00	4,38	141,00	57,32	124,1	5,07	18,59	372,13	3,84	3,61	13,67	863,57
106	G-10	6	0,87	7,60	2,83	780,83	4,82	166,00	64,86	134,67	3,79	13,01	158,66	2,77	2,20	11,02	252,09
107	G-11	6	0,93	7,54	3,99	1797,00	4,92	104,33	13,45	117,52	3,30	3,89	63,98	1,74	2,31	7,52	74,90
108	G-12	6	1,15	7,51	4,01	2415,00	3,95	101,00	6,58	104,67	5,70	11,75	210,62	2,98	1,91	10,81	428,40
109	G-13	6	2,06	7,71	6,69	-	3,63	121,00	4,70	98,95	5,25	5,99	83,44	2,58	1,58	6,81	98,55
110	G-15	6	3,84	7,65	6,91	931,93	3,01	< 4,80	5,49	85,71	4,77	1,42	61,12	2,48	3,30	8,83	52,95
111	G-17	6	7,12	7,72	7,70	979,72	2,09	28,96	5,24	87,62	4,60	1,92	64,74	2,35	2,57	13,59	45,49
112	G-21	6	19,45	7,81	7,02	157,15	4,50	96,67	7,36	107,14	4,43	5,95	96,87	2,31	7,28	38,32	132,37
113	G-23	6	34,62	7,90	7,25	164,49	1,54	97,91	13,56	86,09	3,06	<1,00	99,79	1,54	3,65	53,07	135,02
114	G-24	6	48,20	7,99	7,75	103,33	0,37	59,75	9,13	42,24	4,63	<1,00	135,91	2,76	4,54	57,71	270,56

ANEXO 3

Construcción de gráficos de cajas y bigotes

Este tipo de gráficos permite resumir la distribución de los valores de una variable, y en este caso en particular se han realizado un gráfico para cada una de las estaciones de muestreo y para todas las variables. De este modo, en lugar de visualizar los datos individuales se representan los cinco estadísticos básicos de la distribución, como son el cuartil inferior o percentil 25, la mediana, o segundo cuartil, el cuartil superior o percentil 75 y los valores máximos y mínimos de la distribución (Visauta, 1997).

Como es sabido, los cuartiles inferior y superior, son los valores a partir de los cuales el 25% o 75% de las observaciones se encuentran en o por debajo de este valor. La distancia entre estos dos cuartiles es el denominado rango intercuartil. En la figura se muestra un ejemplo de este tipo de gráficos especificando cada uno de sus componentes.



En este tipo de gráficos se pueden representar igualmente valores extremos que quedan fuera de la distribución, representándose en este caso de forma individual. En este caso se han incluido en los gráficos dos tipos de valores extremos, en función de

cuanto se alejan del cuartil superior o inferior de la distribución. De este modo, aquellos valores que se encuentran alejados más de tres veces del rango intercuartil se representan con un asterisco (*), mientras que aquellos alejados entre 1,5 y 3 veces dicho rango se representan con un círculo (○). Aunque en la figura se ha mostrado un ejemplo con valores extremos por encima del percentil 75, también puede darse el caso de que dichos valores extremos sean inferiores al percentil 25, con lo que tendríamos una representación similar pero con los puntos por debajo de la primera observación dentro de los límites.

En alguna de las gráficas realizadas en este trabajo ha sido necesaria la eliminación de algunos de estos puntos extremos debido a que distorsionaban los comportamientos generales, tal y como se ha comentado en el texto.

ANEXO 4

Pruebas de significación

Las pruebas de significación son test estadísticos que contrastan si las diferencias observadas entre dos resultados son significativas o si se justifican únicamente por variaciones aleatorias.

Cuando se realiza una prueba de significación se trata de probar la veracidad de una hipótesis, denominada hipótesis nula (H_0). El término nulo se utiliza para indicar que no hay más diferencias que las que pueden atribuirse a la variación aleatoria. Por lo general, la hipótesis nula se rechaza cuando la probabilidad de que la diferencia observada ocurra por azar es menor que una de cada 20 veces, y en este caso se dice que la diferencia es significativa al nivel de 0,05 (o 5%). El nivel de significación proporciona la probabilidad de rechazar una hipótesis nula cuando ésta es verdadera, así que si se quiere asegurar más que se toma la decisión adecuada se puede manejar un nivel de significación menor.

Existen diferentes pruebas de significación dependiendo de la hipótesis nula considerada. A continuación se explican aquellos que han sido utilizados en el presente trabajo (Miller y Miller, 2002).

1. Prueba estadística t de comparación de una media experimental con un valor conocido

Esta prueba ha sido utilizada en el presente trabajo para establecer si existían diferencias entre las concentraciones determinadas en un material de referencia utilizando los métodos analíticos propuestos y aquellas que estaban certificadas. De este modo se trata de probar la hipótesis nula de que el valor medido es igual al valor real. Para esto se calcula el estadístico t mediante la ecuación:

$$t = \frac{(\bar{x} - \mu)}{\sqrt{n}/s}$$

Donde μ es el valor certificado, \bar{x} es el valor medio del dato analítico, n el número de medidas realizadas para obtenerlo y s su desviación estándar.

El valor absoluto de t se compara con un cierto valor crítico que se encuentra tabulado dependiendo del nivel de significación del test y del número de grados de libertad, $n-1$. Si el valor calculado resulta mayor que el tabulado entonces se rechaza la hipótesis nula, es decir, las diferencias entre ambos valores no son atribuibles únicamente a errores aleatorios.

2. Prueba t de comparación de dos medias experimentales

Esta prueba compara si existen diferencias significativas entre dos medias experimentales \bar{x}_1 y \bar{x}_2 , que han sido obtenidas, por ejemplo, aplicando métodos analíticos distintos. En este caso la hipótesis nula que se plantea es que ambos métodos analíticos proporcionan el mismo resultado, es decir se necesita probar que $(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)$ no difiere significativamente de cero.

Antes de aplicar este test es necesario determinar si las desviaciones estándar de ambos valores medios no difieren significativamente entre ellas, ya que esto marcará la estrategia a seguir para realizar el cálculo del estadístico t . Para realizar la comparación de ambas desviaciones estándar se ha recurrido a otro test de significación, la prueba F .

En la prueba F se considera la razón de las dos varianzas muestrales de modo que se calcula el estadístico F mediante la ecuación:

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2}$$

Los valores de las varianzas han de situarse de modo que F siempre sea superior a 1. Después se compara el valor obtenido con un valor crítico de F que se encuentra tabulado según el nivel de significación y los grados de libertad de numerador y denominador, que son respectivamente n_1-1 y n_2-2 . Cuando el valor de F calculado supera el valor crítico se rechaza la hipótesis nula, es decir, existen diferencias significativas entre ambas desviaciones estándar.

Así, dependiendo del resultado de la prueba F existen dos estrategias distintas para realizar la prueba de comparación de dos medias experimentales.

a. Las varianzas son significativamente iguales

En este caso es posible realizar el cálculo de una varianza conjunta, s , mediante la ecuación:

$$s^2 = \frac{[(n_1 - 1) \cdot s_1^2 + (n_2 - 1) \cdot s_2^2]}{n_1 + n_2 - 2}$$

Y el valor del estadístico t se calcula con la ecuación:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s \cdot \sqrt{\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)}}$$

Donde t tiene $(n_1 + n_2 - 2)$ grados de libertad.

b. Las varianzas difieren significativamente

Un método aproximado consiste en modificar la ecuación anterior por:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\left(\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}\right)}}$$

Y el número de grados de libertad se calcula mediante la siguiente ecuación aproximando el resultado al número entero más cercano.

$$g.l. = \frac{\left(\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}\right)}{\frac{(s_1^2/n_1)^2}{n_1 + 1} + \frac{(s_2^2/n_2)^2}{n_2 + 1}}$$

Una vez calculado el estadístico t se compara con su valor crítico, tabulado según el nivel de significación y los grados de libertad, de forma que si el valor obtenido es mayor que el tabulado se rechaza la hipótesis nula, es decir, existen diferencias significativas entre ambos métodos analíticos.

3. Análisis de la varianza

Las pruebas de significación presentadas anteriormente comparan valores sólo de dos en dos, pero es habitual la necesidad de comparar grupos de datos que contienen más de dos medias, para lo que el análisis de la varianza, más conocido como ANOVA, resulta de especial interés.

En este trabajo se ha utilizado el ANOVA por un lado para establecer si las diferencias encontradas en cuatro medidas de una misma muestra se debían únicamente a errores aleatorios o por el contrario eran debidas a la diferente dilución previa a la determinación de cada una de ellas, y por otro lado para establecer si existían diferencias entre las variables medidas en las aguas del río Guadalquivir entre las diferentes tomas de muestras y entre las diferentes zonas muestreadas a lo largo del río.

En el primer caso, existen dos fuentes de variación posible, por un lado la debida a los errores aleatorios y por otro lado la que procede del llamado factor controlado o de efecto fijo, que en este caso sería la dilución. De este modo, la hipótesis nula que se plantea es que no existen diferencias debidas a la dilución de las muestras, y para confirmar dicha hipótesis se utiliza el ANOVA de un factor.

En el segundo caso, junto a los errores aleatorios, aparecen dos factores de variación que pueden influir en los resultados obtenidos. Dichos factores son el tiempo (fecha de la toma de muestra) y el espacio (estaciones de muestreo), y para determinar si afectan a los resultados obtenidos debe realizarse un ANOVA de dos factores, que además tendrá en cuenta si existe o no interacción entre ellos.

Para poder realizar el análisis de la varianza los datos deben de cumplir una serie de requisitos previos. Estos requisitos son (Miller y Miller, 2002; Ramis y García, 2001):

- Homogeneidad de la varianza: se comprueba mediante el ensayo de homogeneidad de Bartlett, en el que se calcula el estadístico χ^2 , o el de Levene, que calcula el estadístico W.
- Los datos se ajustan a una distribución normal o Gaussiana.: se comprueba gráficamente, por ejemplo mediante curvas de frecuencias acumuladas, o bien mediante el test de Kolmogorov-Smirnov de forma que cuanto más pequeño sea el estadístico y más grande el nivel de significación, más se ajustarán los datos a una ley normal. Cuando los datos no siguen esta distribución es posible realizar

algunas transformaciones, como el cálculo del logaritmo, la raíz cuadrada o cúbica, etc... de modo que se ajuste a la normalidad. Si no se encuentra una transformación de este tipo será necesario recurrir al equivalente no paramétrico del ANOVA, el test de Kruskal-Wallis.

- La variación incontrolada es aleatoria: es decir, no existe ningún factor incontrolado que produjese una tendencia en los resultados a lo largo de un periodo de tiempo.

Análisis de la varianza de un factor

El método ANOVA se puede utilizar para separar la variación debida al error aleatorio de cualquier otra variación que venga provocada por un cambio en el factor de control. De este modo se puede determinar si una alteración del factor de control conduce a diferencias significativas entre los valores medios obtenidos (Miller y Miller, 2002).

El método se basa en considerar cada grupo de medidas (x_{ij}), por ejemplo las correspondientes a cada dilución, como una muestra (x_i) con su media respectiva (\bar{x}_i), y el valor medio entre todas las muestras (\bar{x}). La hipótesis nula adopta la forma de que todas las muestras se extraen de una población con una media μ y una varianza σ_0^2 . Esta varianza puede calcularse de dos formas, una estudia la variación dentro de las muestras y la otra la variación entre muestras.

Para calcular la estimación dentro de las muestras, considerando h muestras, se utiliza la ecuación:

$$\sigma_0^2 = \frac{\sum_i \sum_j (x_{ij} - \bar{x}_i)^2}{h \cdot (n-1)}$$

Esta expresión se denomina cuadrado medio y promedia las varianzas muestrales a partir de la varianza de cada muestra.

Para calcular la estimación entre las muestras se utiliza la ecuación:

$$\sigma_0^2 = \frac{n \cdot \sum_i (\bar{x}_i - \bar{x})^2}{h-1}$$

Este valor será independiente de la variabilidad existente dentro de cada muestra, ya que se calcula a partir de las medias muestrales.

Si la hipótesis nula es correcta ambos valores de σ_0^2 no deberían diferir significativamente. Para comprobar si realmente ambos valores no difieren se utiliza la prueba F que se ha explicado anteriormente.

En los casos en que se rechace la hipótesis nula es necesario realizar un análisis posterior para identificar a qué se debe esa diferencia, ya que puede ser debida a que existen dos grupos diferentes entre sí, o a que todos los grupos difieran entre sí, o que las medias puedan estar en dos grupos distintos, etc. De entre los múltiples test que permiten identificar el origen de estas diferencias los más aceptados y utilizados son el test de Tuckey y el de Newman-Keuls (Zar, 1984). En este trabajo se ha utilizado el test de Tuckey que se describe posteriormente.

Análisis de la varianza de dos factores

En este caso, los N datos (x_{ij}) se disponen en una tabla de doble entrada de forma que en cada fila se recogen los c niveles del factor A (por ejemplo las distintas zonas) y en las columnas se recogen los r niveles del factor B (por ejemplo, los muestreos realizados), considerando en cada celda la media muestral entre las distintas variables determinadas. En la última columna se recoge la suma de los tamaños muestrales de cada fila (T_i), y de forma análoga en la última fila se recogen las sumas de los tamaños muestrales de cada columna (T_j), de forma que el tamaño muestral total se recoge en la esquina inferior derecha de la tabla (T).

En la tabla se presentan los cálculos para cada uno de los factores y para la interacción entre ellos (Uriel, 1995):

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad
Factor A	$\sum \left(\frac{T_i^2}{c} - \frac{T^2}{N} \right)$	c-1
Factor B	$\sum \left(\frac{T_j^2}{r} - \frac{T^2}{N} \right)$	r-1
Interacción	$\sum \sum \left(x_{ij}^2 - \frac{T^2}{N} \right)$	(g-1)(r-1)

A partir de estos valores se calculan las medias cuadráticas para cada factor y la interacción dividiendo la suma de cuadrados entre los grados de libertad y a partir de ellas se calcula el estadístico F de un modo similar al ANOVA de un factor. Este estadístico indica si son significativas las varianzas debidas a cada uno de los factores así como a la interacción entre ellas.

Al igual que ocurría con el ANOVA de un factor, puede que existan diferencias debidas a un factor pero no tienen porqué abarcar todos los niveles. Para identificar cuáles son estas diferencias se ha utilizado nuevamente el test de Tuckey.

En nuestro caso particular, debido a que existían estaciones correspondientes a la desembocadura que sólo se habían muestreado en una fecha, no se podía aplicar directamente el ANOVA de dos factores, ya que resultaban cero grados de libertad. Para solventar este problema se decidió agrupar las estaciones de muestreo siguiendo un criterio lógico de similitud de características, de forma que se crearon cuatro zonas.

Zona 1: urbana + agrícola, G1-G5

Zona 2: urbana (Sevilla), G6-G7

Zona 3: agrícola, G8-G12

Zona 4: desembocadura, G13-G26

Test de Tuckey

En este caso la hipótesis nula que se adopta es que las medias muestrales son iguales dos a dos, es decir, compara cada media muestral con todas las demás.

El primer paso es ordenar las medias de mayor a menor y tabular cada par de diferencias entre ellas ($\bar{x}_b - \bar{x}_a$), calculando para cada una el estadístico q mediante la ecuación:

$$q = \frac{\bar{x}_b - \bar{x}_a}{\sqrt{s^2/n}}$$

Donde s^2 es el error medio cuadrado del análisis de la varianza y n el número de datos en los grupos a y b.

Este valor de q calculado se compara con un valor crítico tabulado según el nivel de significación, el error del análisis de la varianza y el número total de medias que están siendo evaluadas. Si el valor calculado es mayor que el tabulado entonces se

rechaza la hipótesis nula, es decir, existen diferencias significativas para ese par de medias.

Test de Kruskal-Wallis

Cuando los datos no se ajustan a la distribución normal es necesario recurrir a técnicas no paramétricas para su tratamiento. La alternativa no paramétrica al análisis de la varianza es el test de Kruskal-Wallis. Esta prueba estadística para comparar varios grupos de muestras se basa en la comparación de las medianas, y no de las medias como el caso del ANOVA. La hipótesis nula que plantea es que las medianas de las muestras no son significativamente diferentes.

Básicamente el test consiste en agrupar los resultados disponiéndolos en orden de rangos y determinando el total de posiciones de los datos de las diferentes muestras. Si cada muestra (A,B,...) tiene el mismo número de medidas (n_i) y tienen medianas similares entonces serán similares la suma total de posiciones en cada muestra (R_A, R_B, \dots), y la suma de los cuadrados sería mínima. Para determinar la probabilidad de obtener cualquier suma de cuadrados se calcula el estadístico chi-cuadrado (χ^2) mediante la ecuación (Miller y Miller, 2002):

$$\chi^2 = \frac{12}{N^2 + N} \left(\frac{R_A^2}{n_A} + \frac{R_B^2}{n_B} + \dots \right) - 3(N + 1)$$

donde $N = n_A + n_B + \dots$

Este valor de chi-cuadrado se compara con los valores tabulados, de forma que aquellos valores experimentales que los superen permiten rechazar la hipótesis nula, es decir confirman que las medianas difieren significativamente.

ANEXO 5

Resultados de la comparación de medias: ANOVA y Kruskal-Wallis

Antes de proceder al análisis de la varianza se comprobaron los supuestos de normalidad (test de Kolmogorov-Smirnov) y homogeneidad de la varianza (test de Levene).

En el caso de que los datos no se ajustaron a la distribución normal se aplicaron diferentes transformaciones (logaritmos, raíces,...) para que cumplieran dicha condición, indicando en cada caso qué transformación permitió cumplir la normalidad. Si ninguna de las transformaciones consiguió establecer la normalidad de la serie se realizó un test de Kruskal-Wallis para cada uno de los factores.

Con posterioridad al análisis de la varianza y cuando éste concluyó la existencia de diferencias significativas, se aplicó el test de Tukey para determinar dónde se encontraban dichas diferencias. Aquéllas que fueron significativas, con un nivel de significación de 0,05, han sido marcadas con un asterisco.

pH

Presenta una distribución normal y varianzas homogéneas.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Sig.
Zona	1,373	3	0,458	30,606	0,000
Muestreo	0,177	5	0,035	2,369	0,046
Interacción	1,144	15	0,076	5,101	0,000

Test de Tukey

ZONA

(I) ZONA	(J) ZONA	Diferencia (I-J)	Error	Sig.
1	2	0,0973	0,04177	0,099
	3*	0,1423	0,03158	0,000
	4*	-0,1600	0,02923	0,000
2	1	-0,0973	0,04177	0,099
	3	0,0450	0,04177	0,704
	4*	-0,2574	0,04003	0,000
3	1*	-0,1423	0,03158	0,000
	2	-0,0450	0,04177	0,704
	4*	-0,3024	0,02923	0,000
4	1*	0,1600	0,02923	0,000
	2*	0,2574	0,04003	0,000
	3*	0,3024	0,02923	0,000

MUESTREO

(I) MUESTREO	(J) MUESTREO	Diferencia (I-J)	Error	Sig.
1	2	0,0858	0,04150	0,314
	3	0,0332	0,04150	0,967
	4	-0,0414	0,04018	0,907
	5	-0,0105	0,04102	1,000
	6*	0,1356	0,04202	0,021
2	1	-0,0858	0,04150	0,314
	3	-0,0526	0,03968	0,770
	4*	-0,1272	0,03830	0,016
	5	-0,0963	0,03918	0,148
	6	0,0498	0,04023	0,817
3	1	-0,0332	0,04150	0,967
	2	0,0526	0,03968	0,770
	4	-0,0745	0,03830	0,382
	5	-0,0437	0,03918	0,874
	6	0,1024	0,04023	0,122
4	1	0,0414	0,04018	0,907
	2*	0,1272	0,03830	0,016
	3	0,0745	0,03830	0,382
	5	0,0309	0,03778	0,964
	6*	0,1769	0,03887	0,000
5	1	0,0105	0,04102	1,000
	2	0,0963	0,03918	0,148
	3	0,0437	0,03918	0,874
	4	-0,0309	0,03778	0,964
	6*	0,1461	0,03973	0,005
6	1*	-0,1356	0,04202	0,021
	2	-0,0498	0,04023	0,817
	3	-0,1024	0,04023	0,122
	4*	-0,1769	0,03887	0,000
	5*	-0,1461	0,03973	0,005

OXÍGENO DISUELTO

Presenta una distribución normal y varianzas homogéneas.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Sig.
Zona	126,158	3	42,053	48,539	0,000
Muestreo	49,198	2	24,599	28,393	0,000
Interacción	27,183	6	4,530	5,229	0,000

*Test de Tuckey***ZONA**

(I) ZONA	(J) ZONA	Diferencia (I-J)	Error	Sig.
1	2*	2,3663	0,44961	0,000
	3*	2,5127	0,33988	0,000
	4*	-0,8345	0,30636	0,043
2	1*	-2,3663	0,44961	0,000
	3	0,1463	0,44961	0,988
	4*	-3,2008	0,42485	0,000
3	1*	-2,5127	0,33988	0,000
	2	-0,1463	0,44961	0,988
	4*	-3,3472	0,30636	0,000
4	1*	0,8345	0,30636	0,043
	2*	3,2008	0,42485	0,000
	3*	3,3472	0,30636	0,000

MUESTREO

(I) MUESTREO	(J) MUESTREO	Diferencia (I-J)	Error	Sig.
4	5*	-1,9013	0,28757	0,000
	6*	-0,7684	0,29582	0,033
5	4*	1,9013	0,28757	0,000
	6*	1,1329	0,30241	0,001
6	4*	0,7684	0,29582	0,033
	5*	-1,1329	0,30241	0,001

SÓLIDOS EN SUSPENSIÓN

Transformado a log (s.s) cumple normalidad, pero no igualdad de varianzas.

Test de Kruskal-Wallis

	Chi-cuadrado	Grados de libertad	Sig.
Zona	17,501	3	0,001
Muestreo	37,586	5	0,000

NITRATOS

Presenta una distribución normal pero no cumple homogeneidad de las varianzas.

Test de Kruskal-Wallis

	Chi-cuadrado	Grados de libertad	Sig.
Zona	61,21	3	0,000
Muestreo	7,128	5	0,211

AMONIO

No presenta una distribución normal.

Test de Kruskal-Wallis

	Chi-cuadrado	Grados de libertad	Sig.
Zona	67,64	3	0,000
Muestreo	10,84	5	0,055

NITRITOS

Transformado a $\sqrt[3]{NO_2^-}$ cumple la distribución normal, pero no la homogeneidad de varianzas.

Test de Kruskal-Wallis

	Chi-cuadrado	Grados de libertad	Sig.
Zona	54,968	3	0,000
Muestreo	6,165	5	0,291

FOSFATOS

Presenta una distribución normal pero no cumple homogeneidad de las varianzas.

Test de Kruskal-Wallis

	Chi-cuadrado	Grados de libertad	Sig.
Zona	38,208	3	0,000
Muestreo	7,778	5	0,169

COBRE

Presenta una distribución normal y varianzas homogéneas

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Sig.
Zona	25,342	3	8,447	11,676	0,000
Muestreo	46,228	5	9,246	12,780	0,000
Interacción	15,381	15	1,025	1,417	0,156

Test de Tuckey**ZONA**

(I) ZONA	(J) ZONA	Diferencia (I-J)	Error	Sig.
1	2	0,4633	0,29052	0,387
	3	-0,1658	0,21962	0,874
	4*	-0,9477	0,20332	0,000
2	1	-0,4633	0,29052	0,387
	3	-0,6291	0,29052	0,141
	4*	-1,4110	0,27841	0,000
3	1	0,1658	0,21962	0,874
	2	0,6291	0,29052	0,141
	4*	-0,7819	0,20332	0,001
4	1*	0,9477	0,20332	0,000
	2*	1,4110	0,27841	0,000
	3*	0,7819	0,20332	0,001

MUESTREO

(I) MUESTREO	(J) MUESTREO	Diferencia (I-J)	Error	Sig.
1	2	-0,1711	0,28861	0,991
	3	-0,1943	0,28861	0,984
	4	-0,0873	0,27947	1,000
	5	-0,5700	0,28529	0,352
	6*	-1,9062	0,29225	0,000
2	1	0,1711	0,28861	0,991
	3	-0,0232	0,27596	1,000
	4	0,0838	0,26639	1,000
	5	-0,3989	0,27249	0,688
	6*	-1,7351	0,27977	0,000
3	1	0,1943	0,28861	0,984
	2	0,0232	0,27596	1,000
	4	0,1069	0,26639	0,999
	5	-0,3758	0,27249	0,739
	6*	-1,7120	0,27977	0,000

MUESTREO (continuación)

(I) MUESTREO	(J) MUESTREO	Diferencia (I-J)	Error	Sig.
4	1	0,0873	0,27947	1,000
	2	-0,0838	0,26639	1,000
	3	-0,1069	0,26639	0,999
	5	-0,4827	0,26279	0,448
	6*	-1,8189	0,27033	0,000
5	1	0,5700	0,28529	0,352
	2	0,3989	0,27249	0,688
	3	0,3758	0,27249	0,739
	4	0,4827	0,26279	0,448
	6*	-1,3362	0,27634	0,000
6	1*	1,9062	0,29225	0,000
	2*	1,7351	0,27977	0,000
	3*	1,7120	0,27977	0,000
	4*	1,8189	0,27033	0,000
	5*	1,3362	0,27634	0,000

MANGANESO

Transformado a $\sqrt[3]{Mn}$ presenta una distribución normal y varianzas homogéneas.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Sig.
Zona	38,482	3	12,827	58,373	0,000
Muestreo	12,594	5	2,519	11,462	0,000
Interacción	17,355	15	1,157	5,265	0,000

ZONA

(I) ZONA	(J) ZONA	Diferencia (I-J)	Error	Sig.
1	2	-0,3087	0,16012	0,224
	3*	0,7077	0,12104	0,000
	4*	1,3585	0,11206	0,000
2	1	0,3087	0,16012	0,224
	3*	1,0164	0,16012	0,000
	4*	1,6671	0,15344	0,000
3	1*	-0,7077	0,12104	0,000
	2*	-1,0164	0,16012	0,000
	4*	0,6508	0,11206	0,000
4	1*	-1,3585	0,11206	0,000
	2*	-1,6671	0,15344	0,000
	3*	-0,6508	0,11206	0,000

*Test de Tuckey***MUESTREO**

(I) MUESTREO	(J) MUESTREO	Diferencia (I-J)	Error	Sig.
1	2	0,0256	0,15906	1,000
	3	-0,0380	0,15906	1,000
	4*	0,8600	0,15402	0,000
	5*	0,8993	0,15723	0,000
	6*	0,7034	0,16107	0,000
2	1	-0,0256	0,15906	1,000
	3	-0,0636	0,15209	0,998
	4*	0,8344	0,14681	0,000
	5*	0,8736	0,15018	0,000
	6*	0,6778	0,15419	0,000
3	1	0,0380	0,15906	1,000
	2	0,0636	0,15209	0,998
	4*	0,8980	0,14681	0,000
	5*	0,9372	0,15018	0,000
	6*	0,7413	0,15419	0,000
4	1*	-0,8600	0,15402	0,000
	2*	-0,8344	0,14681	0,000
	3*	-0,8980	0,14681	0,000
	5	0,0392	0,14483	1,000
	6	-0,1567	0,14899	0,899
5	1*	-0,8993	0,15723	0,000
	2*	-0,8736	0,15018	0,000
	3*	-0,9372	0,15018	0,000
	4	-0,0392	0,14483	1,000
	6	-0,1959	0,15230	0,792
6	1*	-0,7034	0,16107	0,000
	2*	-0,6778	0,15419	0,000
	3*	-0,7413	0,15419	0,000
	4	0,1567	0,14899	0,899
	5	0,1959	0,15230	0,792

COBALTO

Presenta una distribución normal y homogeneidad de las varianzas.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Sig.
Zona	100599,709	5	20119,942	6,032	0,000
Muestreo	209968,956	3	69989,652	20,982	0,000
Interacción	250638,910	15	16709,261	5,009	0,000

Test de Tuckey
ZONA

(I) ZONA	(J) ZONA	Diferencia (I-J)	Error	Sig.
1	2	-23,6739	29,17885	0,849
	3	32,1401	22,05714	0,468
	4*	66,1827	20,42094	0,009
2	1	23,6739	29,17885	0,849
	3	55,8140	29,17885	0,230
	4*	89,8566	27,96252	0,010
3	1	-32,1401	22,05714	0,468
	2	-55,8140	29,17885	0,230
	4	34,0425	20,42094	0,347
4	1*	-66,1827	20,42094	0,009
	2*	-89,8566	27,96252	0,010
	3	-34,0425	20,42094	0,347

MUESTREO

(I) MUESTREO	(J) MUESTREO	Diferencia (I-J)	Error	Sig.
1	2	-27,6966	19,59696	0,719
	3	-57,7914	21,13626	0,079
	4	49,7858	18,97632	0,103
	5	1,1456	19,37170	1,000
	6	-16,6524	19,84425	0,959
2	1	27,6966	19,59696	0,719
	3	-30,0948	20,34265	0,678
	4*	77,4824	18,08820	0,001
	5	28,8422	18,50257	0,628
	6	11,0442	18,99675	0,992
3	1	57,7914	21,13626	0,079
	2	30,0948	20,34265	0,678
	4*	107,5772	19,74546	0,000
	5	58,9370	20,12574	0,048
	6	41,1390	20,58099	0,352
4	1	-49,7858	18,97632	0,103
	2*	-77,4824	18,08820	0,001
	3*	-107,5772	19,74546	0,000
	5	-48,6402	17,84390	0,081
	6*	-66,4382	18,35582	0,006
5	1	-1,1456	19,37170	1,000
	2	-28,8422	18,50257	0,628
	3	-58,9370	20,12574	0,048
	4	48,6402	17,84390	0,081
	6	-17,7980	18,76428	0,932
6	1	16,6524	19,84425	0,959
	2	-11,0442	18,99675	0,992
	3	-41,1390	20,58099	0,352
	4*	66,4382	18,35582	0,006
	5	17,7980	18,76428	0,932

NÍQUEL

Presenta una distribución normal y homogeneidad de las varianzas.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Sig.
Zona	11,619	3	3,873	8,523	0,000
Muestreo	4,136	5	0,827	1,820	0,117
Interacción	10,476	15	0,698	1,537	0,109

Test de Tuckey**ZONA**

(I) ZONA	(J) ZONA	Diferencia (I-J)	Error	Sig.
1	2	-0,0515	0,23026	0,996
	3*	-0,5645	0,17406	0,009
	4	0,3508	0,16115	0,138
2	1	0,0515	0,23026	0,996
	3	-0,5130	0,23026	0,124
	4	0,4023	0,22066	0,269
3	1*	0,5645	0,17406	0,009
	2	0,5130	0,23026	0,124
	4*	0,9153	0,16115	0,000
4	1	-0,3508	0,16115	0,138
	2	-0,4023	0,22066	0,269
	3*	-0,9153	0,16115	0,000

PLOMO

No presenta una distribución normal.

Test de Kruskal-Wallis

	Chi-cuadrado	Grados de libertad	Sig.
Zona	13,111	3	0,004
Muestreo	35,285	5	0,000

ZINC

Presenta una distribución normal una vez transformado a log Zn.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Sig.
Zona	6,828	3	2,276	25,279	0,000
Muestreo	2,905	5	0,581	6,454	0,000
Interacción	3,283	15	0,219	2,431	0,005

*Test de Tuckey***ZONA**

(I) ZONA	(J) ZONA	Diferencia (I-J)	Error	Sig.
1	2	-0,2363	0,10249	0,104
	3*	-0,3470	0,07747	0,000
	4*	-0,6251	0,07173	0,000
2	1	0,2363	0,10249	0,104
	3	-0,1107	0,10249	0,702
	4*	-0,3888	0,09822	0,001
3	1*	0,3470	0,07747	0,000
	2	0,1107	0,10249	0,702
	4*	-0,2781	0,07173	0,001
4	1*	0,6251	0,07173	0,000
	2*	0,3888	0,09822	0,001
	3*	0,2781	0,07173	0,001

MUESTREO

(I) MUESTREO	(J) MUESTREO	Diferencia (I-J)	Error	Sig.
1	2*	-0,3136	0,10181	0,032
	3*	-0,6350	0,10181	0,000
	4*	-0,3565	0,09859	0,006
	5*	-0,4183	0,10064	0,001
	6*	-0,5344	0,10310	0,000
2	1*	0,3136	0,10181	0,032
	3*	-0,3214	0,09735	0,017
	4	-0,0429	0,09397	0,997
	5	-0,1047	0,09613	0,884
	6	-0,2208	0,09869	0,231
3	1*	0,6350	0,10181	0,000
	2*	0,3214	0,09735	0,017
	4*	0,2785	0,09397	0,044
	5	0,2167	0,09613	0,224
	6	0,1006	0,09869	0,910
4	1*	0,3565	0,09859	0,006
	2	0,0429	0,09397	0,997
	3*	-0,2785	0,09397	0,044
	5	-0,0618	0,09270	0,985
	6	-0,1779	0,09536	0,430
5	1*	0,4183	0,10064	0,001
	2	0,1047	0,09613	0,884
	3	-0,2167	0,09613	0,224
	4	0,0618	0,09270	0,985
	6	-0,1161	0,09749	0,840
6	1*	0,5344	0,10310	0,000
	2	0,2208	0,09869	0,231
	3	-0,1006	0,09869	0,910
	4	0,1779	0,09536	0,430
	5	0,1161	0,09749	0,840

CADMIO

Presenta una distribución normal y homogeneidad de las varianzas.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Sig.
Zona	7,342	3	2,447	38,998	0,000
Muestreo	0,721	5	0,144	2,299	0,052
Interacción	0,656	15	0,044	0,697	0,781

Test de Tuckey**ZONA**

(I) ZONA	(J) ZONA	Diferencia (I-J)	Error	Sig.
1	2	-0,0388	0,08556	0,969
	3	-0,0791	0,06468	0,614
	4*	-0,6079	0,05988	0,000
2	1	0,0388	0,08556	0,969
	3	-0,0403	0,08556	0,965
	4*	-0,5691	0,08200	0,000
3	1	0,0791	0,06468	0,614
	2	0,0403	0,08556	0,965
	4*	-0,5288	0,05988	0,000
4	1*	0,6079	0,05988	0,000
	2*	0,5691	0,08200	0,000
	3*	0,5288	0,05988	0,000

(página en blanco intencionadamente)

BIBLIOGRAFÍA

(página en blanco intencionadamente)

- Abbasse, G.; Ouddane, B. and Fischer, J.C. (2002) *Determination of trace levels of dissolved vanadium in seawater by use of synthetic complexing agents and inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy (ICP-AES)*. Analytical and Bioanalytical Chemistry **374**, 873-878.
- Achterberg, E.P. and Braundgardt, C. (1999) *Stripping voltammetry for the determination of trace metal speciation and in-situ measurements of trace metal distributions in marine waters*. Analytica Chimica Acta **400**, 381-397.
- Achterberg, E.P.; Braungardt, C.; Morley, N.H.; Elbatz-Poulichet, F. and Leblanc, M. (1999) *Impact of Los Frailes mine spill on riverine, estuarine and coastal waters in southern Spain*. Water Research **33**, 3387-3394.
- Agrawal, G.D. (1999) *Diffuse agricultural water-pollution in India*. Water Science and Technology **39**, 33-47.
- Ahlers, W.W.; Reid, M.R.; Kim, J.P. and Hunter, K.A. (1990) *Contamination-free sample collection and handling protocols for trace elements in Natural Fresh-waters*. Australian Journal of Marine and Freshwater Research **41**, 713-720.
- Alastuey, A.; García-Sánchez, A.; López, F. and Querol, X. (1999) *Evolution of pyrite mud weathering and mobility of heavy metals in the Guadiamar valley after the Aznalcóllar spill, south-west Spain*. The Science of the Total Environment **242**, 41-55.
- Alonso, E. (1998) *Especiación de metales pesados en los procesos convencionales de depuración de aguas residuales urbanas*. Tesis doctoral. Universidad de Sevilla.
- Andreae, M.O.; Byrd, J.T. and Froelich, P.N.Jr. (1983) *Arsenic, antimony and tin in the Tagus estuary, Portugal: modeling of a polluted estuary*. Environmental Science and Technology **17**, 731-737.
- Ansari, A.A.; Singh, I.B. and Tobschall, H.J. (1998) *Organotin compounds in surface and pore waters of Ganga plain in the Kanpur-Unnao industrial region, India*. The Science of the Total Environment **223**, 157-166.
- Arambi, P.; Cabrera, F. and González-Quesada, R. (1996) *Quality evaluation of the surface waters entering the Doñana National Park (SW Spain)*. The Science of Total Environment **191**, 185-196.
- Arienzo, M.; Adamo, P.; Bianco, M.R. and Violante, P. (2001) *Impact of land use and urban runoff on the contamination of the Sarno River basin in southwestern Italy*. Water, Air and Soil Pollution **131**, 349-366.
- Balls, P.W. (1994) *Nutrients inputs to estuaries from nine scottish east coast rivers; influence of estuarine processes on inputs to the North Sea*. Estuarine, Coastal and Shelf Science **39**, 329-352.

Balls, P.W.; Brockie, N.; Dobson, J. and Johnston, W. (1996) *Dissolved oxygen and nitrification in the upper Forth estuary during summer (1982-92): Patterns and trends*. Estuarine, Coastal and Shelf Science **42**, 117-134.

Barth, S.R. (2000a) *Utilization of boron as a critical parameter in water quality evaluation: implications for thermal and mineral water resources in SW Germany and N Switzerland*. Environmental Geology **40**, 73-89.

Barth, S.R. (2000b) *Boron isotopic compositions of near-surface fluids: a tracer for identification of natural and antropogenic contaminant sources*. Water, Air and Soil Pollution **124**, 49-60.

Bartsch, R.A. and Way, J.D. (1996) *Chemical separations with liquid membranes: An Overview*. In Chemical separations with liquid membranes. Eds. R.A. Bartsch and J.D. Way. ACS, Washington.

Basnyat, P.; Teeter, L.D.; Flynn, K.M. and Lockaby, B.G. (1999) *Relationships between landscape characteristics and non-point pollution inputs to coastal estuaries*. Environmental Management **23**, 539-549.

Bayne, C.K. and Rubin, I.B. (1986) *Practical experiments design and optimization methods for chemist*. VCH Publishers, Inc., Florida.

Bednar, A.J.; Garbarino, J.R.; Ranville, J.F. and Wildeman, T.R. (2002) *Preserving the distribution of inorganic arsenic species in groundwater and acid mine drainage samples*. Environmental Science and Technology **36**, 2213-2218.

Behrendt, H.; Kommilch, M.; Opitz, D.; Schmoll, O. and Scholzt, G. (2002) *Estimation of the nutrient inputs into river systems-experiences from German rivers*. Regional Environmental Change **3**, 107-117.

Benes, P. and Steinnes, E. (1995) In *Trace elements in natural waters*. Eds. B. Salbu and E. Steinnes. CRC Press, Boca Ratón.

Benito, G.; Benito-Calvo, A.; Gallart, F.; Martín-Vide, J.P.; Regües, D. and Bladé, E. (2001) *Hidrological and geomorphological criteria to evaluate the dispersion risk of waste sludge generated by the Aznalcóllar mine spill (SW Spain)*. Environmental Geology **40**, 417-428.

Benoit, G.; Hunter, K.S. and Rozan, T.F. (1997) *Sources of trace metal contamination artifacts during collection, handling and analysis of freshwaters*. Analytical Chemistry **69**, 1006-1011.

Bichi, M.H. and Anyata, B.U. (1999) *Industrial waste pollution in the Kano river basin*. Environmental Management and Health **10**, 112-116.

Blasco, J.; Arias, A.M. and Sáenz, V. (1999) *Heavy metals in organisms of the River Guadalquivir estuary: possible incidence of the Aznalcóllar disaster*. The Science of the Total Environment **242**, 249-261.

B.O.E. (1996a) *Real Decreto 261/1996, de 16 de febrero, sobre protección de las aguas contra la contaminación producida por nitratos procedentes de fuentes agrarias*. Boletín Oficial del Estado nº **61** de 11 de Marzo.

B.O.E. (1996b) *Real Decreto 509/1996, de 15 de marzo, de desarrollo del Decreto-Ley 11/95, de 28 de diciembre, por el que se establecen las normas aplicables al tratamiento de las aguas residuales urbanas*. Boletín Oficial del Estado nº **77** de 29 de Marzo.

B.O.E. (1998) *Real Decreto 2116/1998, de 2 de octubre, por el que se modifica el Real Decreto 509/1996, de 28 de diciembre, por el que se establecen las normas aplicables al tratamiento de las aguas residuales urbanas*. Boletín Oficial del Estado nº **251** de 20 de Octubre.

B.O.J.A. (1997) *Orden de 14 de febrero de 1997, por la que se clasifican las aguas litorales andaluzas y se establecen los objetivos de calidad de las aguas afectadas directamente por los vertidos, en desarrollo del Decreto 14/1996, de 16 de enero, por el que se aprueba el Reglamento de calidad de las aguas litorales*. Boletín Oficial de la Junta de Andalucía nº **27** de 4 de marzo.

B.O.J.A. (1999) *Decreto 261/1998 (Andalucía), de 15 de diciembre, por el que se designan las zonas vulnerables a la contaminación por nitratos procedentes de fuentes agrarias en la Comunidad Autónoma de Andalucía*. Boletín Oficial de La Junta de Andalucía nº **5** de 12 de enero.

B.O.J.A. (2001) *Orden de 27 de Junio de 2001, conjunta de las Consejerías de Medio Ambiente y de Agricultura y Pesca, por la que se aprueba el Programa de Actuación aplicable en las zonas vulnerables a la contaminación por nitratos procedentes de fuentes agrarias en Andalucía*. Boletín Oficial de la Junta de Andalucía nº **75** de 3 de Julio.

Boyle, E.; Collier, R.; Dengler, A.T.; Edmond, J.M.; Ng, A.C. and Stallard, R.F. (1974) *On the chemical mass-balance in estuaries*. Geochimica et Cosmochimica Acta **38**, 1719-1728.

Braungardt, C.; Achterberg, E.P. and Nimmo, M. (1998) *On-line voltammetric monitoring of dissolved Cu and Ni in the Gulf of Cadiz, south-west Spain*. Analytica Chimica Acta **377**, 205-215.

Brenner, I.B. and Zander, A.T. (2000) *Axially and radially viewed inductively coupled plasmas- a critical review*. Spectrochimica Acta Part B **55**, 1195-1240.

Bricker, O.P. and Jones, B.F. (1995) *Main factors affecting the composition of natural waters* In Trace elements in natural waters. Eds. B. Salbu and E. Steinnes. CRC Press, Boca Raton.

Brinchi, L.; Di Profio, P.; Germani, R.; Savelli, G. and Spreti, N. (2002) *Structurally simple lipophilic polyamines as carriers of cupric ions in bulk liquids membranes*. European Journal of Organic Chemistry **5**, 930-937.

Bruland, K.W. and Franks, R.P. (1979) *Sampling and analytical methods for the determination of copper, cadmium, zinc and nickel at the nanogram per liter level in seawater*. Analytica Chimica Acta **105**, 233-245.

Budic, B. (2000) *Matrix interferences in the determination of trace elements in waste waters by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry with ultrasonic nebulization*. Fresenius Journal of Analytical Chemistry **368**, 371-377.

Cabon, J.Y. and LeBihan, A. (1995) *The determination of Cr, Cu and Mn in seawater with transversely heated graphite furnace atomic absorption spectrometry*. Spectrochimica Acta Part B **50**, 1703-1716.

Cabrera, F.; Clemente, L.; Díaz-Barrientos, E.; López, R. and Murillo, J.M. (1999) *Heavy metal pollution of soils affected by the Guadiamar toxic flood*. The Science of the Total Environment **242**, 117-131.

Cámara, C. y Pérez-Conde, C. (2002) *Preparación de la muestra para la determinación de analitos inorgánicos*. En Toma y tratamiento de muestras. Eds. C. Cámara, P. Fernández, A. Martín-Esteban, C. Pérez-Conde y M. Vidal. Síntesis, S.A. 2002.

Campderrós, M.E. and Marchese, J. (1997) *Permeation of copper, nickel and cobalt through a supported liquid membrane in a planar module*. Latin American Applied Research **27**, 69-74.

Campos, M.L.A.M.; Bendo, A. and Viel, F.C. (2002) *Low cost methods to purify low grade reagents and to control contamination for trace metal determination in natural waters*. Quimica Nova **25**, 808-813.

Carvalho, F.P. (1995) *^{210}Pb and ^{210}Po in sediments and suspended matter in the Tagus estuary, Portugal. Local enhancement of natural levels by wastes from phosphate ore processing industry*. Science of the Total Environment **159**, 201-215.

Cearreta, A.; Irabien, M.J.; Leorri, E.; Yusta, I.; Croudece, I.W. and Cundy, A.B. (2000) *Recent anthropogenic impacts on the Bilbao Estuary, Northern Spain: geochemical and microfauna evidence*. Estuarine, Coastal and Shelf Science **50**, 571-592.

Cela, R. (1994) en *Avances en Quimiometría práctica*. Coord. R. Cela. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Santiago de Compostela.

- Cenci, R.M. and Martin, J.M. (2004) *Concentration and fate of trace metals in Mekong River Delta*. *The Science of the Total Environment* **332**, 167-182.
- Chakraborty, M.; Bhattacharya, C. and Datta, S. (2003) *Mathematical modeling of simultaneous copper (II) and nickel (II) extraction from wastewater by emulsion liquid membranes*. *Separation Science and Technology* **38**, 2081-2106.
- Chatterjee, A.; Das, D. and Chakrabort, D. (1993) *A study of ground-water contamination by arsenic in the residential area of Behala, Calcutta due to industrial-pollution*. *Environmental Pollution* **80**, 57-65.
- Chen, J.S.; He, D.W.; Zhang, N. And Cui, S.B. (2004) *Characteristics of and human influences on nitrogen contamination in Yellow River system, China*. *Environmental Monitoring and Assessment* **93**, 125-138.
- Chiffolleau, J.F.; Auger, D. and Chartier, E. (1999) *Fluxes of selected trace metals from the Seine estuary to the eastern English Channel during the period August 1994 to July 1995*. *Continental Shelf Research* **19**, 2063-2082.
- Chimuka, L.; Cukrowska, E.; Soko, L. and Naicker, K. (2003) *Supported-liquid membrane extraction as a selective sample preparation technique for monitoring uranium in complex matrix samples*. *Journal of Separation Science* **26**, 601-608.
- Chimuka, L.; Nindi, M.M. and Jönson, J.A. (1997) *Supported liquid membrane enrichment studies of natural water samples applied to liquid chromatographic determination of triazine herbicides*. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* **68**, 429-445.
- Chipasa, B.K. (2003) *Accumulation and fate of selected heavy metals in a biological wastewater treatment system*. *Waste Management* **23**, 135-143.
- Colbert, D.; Johnson, K.S. and Coale, K.H. (1998) *Determination of cadmium in seawater using automated on-line preconcentration and direct-injection graphite-furnace atomic-absorption spectrometry*. *Analytica Chimica Acta* **377**, 255-262.
- Confederación Hidrográfica del Guadalquivir (2004) *Explotación de la red integral de calidad de aguas. Confederación Hidrográfica del Guadalquivir. Informe Anual 2003*. Ministerio de Medio Ambiente, Madrid.
- Consejería de Agricultura y Pesca (1992) *Atlas agrario y pesquero de Andalucía*. Junta de Andalucía, Sevilla.
- Consejería de Medio Ambiente (1997) *Inventario de vertidos líquidos al litoral de Andalucía*. Junta de Andalucía, Sevilla.
- Consejería de Medio Ambiente (2001) *Informe 2001. Medio Ambiente en Andalucía*. Junta de Andalucía, Sevilla.

Consejería de Medio Ambiente (2003) *Usos y coberturas vegetales del suelo en Andalucía (1991-1999)*. Junta de Andalucía, Sevilla.

Consejería de Obras Públicas y Transportes (1998) *Atlas de Andalucía*. Junta de Andalucía, Sevilla.

Conver, T.S. and Koropchak, J.A. (1995) *Comparison of ultrasonic and thermospray systems for high performance sample introduction to inductively coupled plasma atomic emission spectrometry*. Spectrochimica Acta Part B **50**, 341-354.

Cooper, D.M., House, W.A. and Gannon, B. (2002) *The phosphorus budget of the Thame catchment, Oxfordshire, UK: 1. Mass balance*. The Science of the Total Environment **282-283**, 233-251.

Cotté-Krieff, M.H.; Guieu, C.; Thomas, A.J. and Martin, J.M. (2000) *Sources of Cd, Cu, Ni and Zn in Portuguese coastal waters*. Marine Chemistry **71**, 199-214.

Creasey, C.L. and Flegal, A.R. (1999) *Elemental analyses of groundwater: demonstrated advantage of low-flow sampling and trace metal clean techniques over standar techniques*. Hydrogeology Journal **7**, 161-167.

Danesi, P.R.(1984) *Separation of metal species by supported liquid membranes*. Separation Science and Technology **19**, 857-894.

Danielsson, L.G.; Magnusson, B. and Westerlund, S. (1978) *An improved metal extraction procedure for the determination of trace metals in seawater by atomic absorption spectrometry with electrothermal atomization*. Analytica Chimica Acta **98**, 47-57.

Daoud, J.A.; El-Reefy, S.A. and Aly, H.F. (1998) *Permeation of Cd(II) ions through a supported liquid membrane containing Cyanex-302 in kerosene*. Separation Science and Technology **33**, 537-549.

Dassenakis, M.; Scoullou, M.; and Gaitis, A. (1997) *Trace metals transport and behaviour in the Mediterranean estuary of Acheloos river*. Marine Pollution Bulletin **34**, 103-111.

Dassenakis, M.; Scoullou, M.; Krasakopoulou, E.; Plavidou, A. and Kloukiniotou, M. (1998) *Effects of multiple source pollution on a small Mediterranean river*. Applied Geochemistry **13**, 197-211.

Davidson, G.R. and Basset, R.L. (1993) *Aplication of boron isotopes for identifying contaminants such as fly ash lechate in groundwaters*. Environment Science and Technology **27**, 172-176.

Dean, J.R. (1998) *Extraction methods for environmental analysis*. Ed. John Wiley & Sons Ltd., Baffins Lane, Chichester (England).

De Jong, J.T.M.; Boye, M.; Schoemann, V.F. ; Nolting, R.F. and de Barr, H.J.W. (2000) *Shipboard techniques based on flow injection analysis for measuring dissolved Fe, Mn and Al in seawater*. Journal of Environmental Monitoring **2**, 496-502.

Desboeufs, K.V.; Losno, R. and Colin, J.L. (2003) *Figures of merit of pneumatic and ultrasonic sample introduction systems in inductively coupled plasma-multichannel-based emission spectrometry in an ultra-clean environment*. Analytical and Bioanalytical Chemistry **375**, 567-573.

Díaz-Barrientos, E.; Madrid, L. and Cardo, I. (1999) *Effect of flood with mine wastes on metal extractability of some soils of the Guadiamar river basin (SW Spain)*. The Science of the Total Environment **242**, 149-167.

Djane, N.; Ndung'u, K.; Malcus, F.; Johansson, G. and Mathiasson, L. (1997) *Supported liquid membrane enrichment using an organophosphorus extractant for analytical trace metal determinations in river waters*. Fresenius Journal of Analytical Chemistry **358**, 822-827.

Djane, N.; Ndung'u, K.; Johnson, C.; Sartz, H.; Tornstrom, T. and Mathiasson, L. (1999) *Chromium speciation in natural waters using serially connected supported liquid membranes*. Talanta **48**, 1121-1132.

D.O.C.E. (1991) *Directiva del Consejo 91/271/CEE, de 21 de mayo de 1991, sobre el tratamiento de las aguas residuales urbanas*. Diario Oficial de la Comunidad Europea nº 135, serie L, de 30 de Mayo.

D.O.U.E. (1991) *Directiva del Consejo 91/676/CEE, de 12 de diciembre de 1991, relativa a la protección de las aguas contra la contaminación producida por nitratos utilizados en la agricultura*. Diario Oficial de la Unión Europea nº 375, serie L, de 31 de diciembre.

Doležal, J.; Moreno, C.; Hrdlička, A. and Valiente, M. (2000) *Selective transport of lanthanides through supported liquid membrane containing non-selective extractant, Di-(2-Ethylhexyl) phosphoric acid as a carrier*. Journal of Membrane Science **168**, 175-181.

Dore, J.E.; Houlihan, T.; Hebel, D.V.; Tien, G.; Tupas, L. and Karl, D.M. (1996) *Freezing as a method of sample preservation for the analysis of dissolved inorganic nutrients in seawater*. Marine Chemistry **53**, 173-185.

Drake, P.; Baldó, F.; Cuesta, J.A.; García-González, D.; Silva-García, A.; Arias, A.M.; Rodríguez, A. and Sobrino, I. (1999). *Initial effect of the toxic waste spill (Aznalcóllar mine accident) on the aquatic macrofauna of Guadalquivir Estuary*. The Science of the Total Environment **242**, 271-281.

Dunlap, C.E.; Bouse, R. and Flegal, A.R. (2000) *Past leaded gasoline emissions as a nonpoint source tracer in riparian systems: a study of river inputs to San Francisco Bay*. Environmental Science and Technology **34**, 1211-1215.

Eisenhut, S., Heumann, K.G. and Vengosh, A. (1996) *Determination of boron isotopic variations in aquatic systems with negative thermal ionization mass spectrometry as a tracer for anthropogenic influences*. *Fresenius of Journal Analytical Chemistry* **354**, 903-909.

Eisenhut, S. and Heumann, K.G. (1997) *Identification of ground-water contaminations by landfills using precise boron isotope ratio measurements with negative thermal ionization mass spectrometry*. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* **359**, 375-377.

Elbaz-Poulichet, F.; Morley, N.H.; Beckers, J.M. and Nomerange, P. (2001) *Metal fluxes through the Strait of Gibraltar: the influence of the Tinto and Odiel rivers (SW Spain)*. *Marine Chemistry* **73**, 193-213.

Elbaz-Poulichet, F.; Morley, N.H.; Cruzado, A.; Velasquez, Z.; Achterberg, E.P. and Braungardt, B. (1999) *Trace metal and nutrient distribution in an extremely low pH (2.5) river-estuarine system, the Ria of Huelva (South-West Spain)*. *The Science of the Total Environment* **227**, 73-83.

Ensafi, A.A. and Abbasi, S. (2000) *Highly selective-cathodic stripping voltammetric determination of copper with alpha-benzylmonooxime*. *Microchemical Journal* **64**, 195-200.

Ensafi, A.A.; Benvidi, A. and Khayamian, T. (2004) *Determination of cadmium and zinc in water and alloys by adsorption stripping voltammetry*. *Analytical Letters* **37**, 449-462.

Espigares, M., Coca, C. Fernandezcrehuet, M., Moreno, O., Bueno, A. and Galvez, R. (1997) *Pesticide concentrations in the waters from a section of the Guadalquivir River Basin, Spain*. *Environmental Toxicology and Water Quality* **12**, 249-256.

Eyal, A.M. and Bressler, E. (1993) *Industrial separation of carboxylic and aminoacids by liquid membranes-Applicability, process considerations, and potential advantages*. *Biotechnology and bioengineering* **41**, 287-295.

Falk, H.; Geerling, R.; Hattendorf, B.; Kregel-Rothense, K. and Schmidt, K.P. (1997) *Capabilities and limits of ICP-MS for direct determination of element traces in saline solutions*. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* **359**, 352-356.

Farmer, J.G. and Graham, M.C. (1999) In *Understanding our environment: An introduction to environmental chemistry and pollution*. Ed. Harrison, R.M. The Royal Society of Chemistry. Cambridge.

Featherstone, A.M. and O'Grady, B.V. (1997) *Removal of dissolved copper and iron at the freshwater-saltwater interface of an acid mine stream*. *Marine Pollution Bulletin* **34**, 332-337.

- Fernández, J.E.; Murillo, J.M.; Moreno, F.; Cabrera, F. and Fernandezboy, E. (1998) *Reducing Fertilization for maize in southwest Spain*. Communications in Soil Science and Plant Analysis **29**, 2829-2840.
- Fernández-Turiel, J.L.; Llorens, J.F.; López-Vera, F.; Gómez-Artola, C.; Morell, I. and Gimeno, D. (2000) *Strategy for water análisis using ICP-MS*. Fresenius Journal of Analytical Chemistry **368**, 601-606.
- Ferrari, C.P.; Moreau, A.L. and Boutron, C.F. (2000) *Clean conditions for the determination of ultra-low levels of mercury in ice and snow samples*. Fresenius Journal of Analytical Chemistry **366**, 433-442.
- Field, M.P. and Sherrel, R.M. (2003) *Direct determination of ultra-trace levels of metals in fresh water using desolvating micronebulization and HR-ICP-MS: application to Lake Superiors waters*. Journal of Analytical Atomic Spectrometry **18**, 254-259.
- Figueres, G.; Martin, J.M.; Meybeck, M. and Seyler, P. (1985) *A comparative study of mercury contamination in the Tagus estuary (Portugal) and major french estuaries (Gironde, Loire, Rhone)*. Estuarine and Shelf Science **20**, 183-203.
- Florido, A.; Bachas, L.G.; Valiente, M. and Villaescusa, I. (1994) *Anion selective electrodes based on a gold (III) triisobutylphosphine sílfide complex*. Analyst **119**, 2421-2425.
- García-Sánchez, A.; Alastuey, A. and Querol, X. (1999) *Heavy metal adsorption by different minerals: application to the remediation of polluted soils*. The Science of the Total Environment **242**, 179-189.
- Gardolinski, P.C.F.C.; Hanrahan, G.; Achternerg, E.P.; Gledhill, M.; Tappin, A.D.; House, W.A. and Worsfold, P.J. (2001) *Comparison of sample storage protocols for the determination of nutrients in natural waters*. Water Research **35**, 3670-3678.
- Gasparon, M. (1998) *Trace metals in water samples: minimising contamination during sampling and storage*. Environmental Geology **36**, 207-214.
- Gholivand, M.B. and Khorsandipoor, S. (2000) *Selective and efficient uphill transport of Cu(II) through bulk liquid membrane using N-Ethyl-2-Aminocyclopentene-1-Dithiocarboxylic acid as carrier*. Journal of Membrane Science **180**, 115-120.
- Ghosh, R. (2001) *Novel membranes for simulating biological barrier transport*. Journal of Membrane Science **192**, 145-154.
- Giroussi, S.T.; Gherghi, I.; Voulgaropoulos, A.N. and Stratis, J.A. (1999) *Voltammetric determination of vanadium, by using 1,10-phenanthroline as a complexing agent*. International Journal of Environmental Analytical Chemistry **75**, 83-91.

Gómez-Parra, A.; Forja, J.M.; DelValls, T.A.; Sáenz, I. and Riba, I. (2000) *Early contamination by heavy metals of the Guadalquivir Estuary after the Aznalcóllar mining spill (SW Spain)*. Marine Pollution Bulletin **40**, 1115-1123.

González, M.J.; Valle, A.I. and Marina, L. (1994) *Determination of nitrate and nitrite anions in natural waters by reversed-phase ion pair liquid chromatography*. Microchemical Journal **50**, 1-5.

Goodchild, R.G. (1998) *EU Policies for the reduction of nitrogen in water: the example of the Nitrates Directive*. Environmental Pollution **102**, 737-740.

Goswami, A. and Singh, A.K. (2002) *Enrichment of iron (III), cobalt(II), nickel (II) and copper(II) by solid-phase extraction with 1,8-dihydroxyanthraquinone anchored to silica gel before their determination by flame atomic absorption spectrometry*. Analytical and Bioanalytical Chemistry **374**, 554-560.

Granado-Castro, M.D.; Galindo-Riaño, M.D. and García-Vargas, M. (2004) *Separation and preconcentration of cadmium ions in natural water using a liquid membrane system with 2-acetylpyridine benzoylhydrazone as carrier by flame atomic absorption spectrometry*. Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy **59**, 577-583.

Grasshoff, K.; Ehrhardt, M. and Kremling, K. (1983) *Methods of seawater analysis*. Second Edition. Verlag Chemie, Weinheim.

Grousset, F.E.; Jovanneau, J.M.; Castaing, P.; Lavaux, G. and Latoche, C. (1999) *A 70 year record contamination from industrial activity along the Garonne River and its Tributaries (SW France)*. Estuarine Coastal and Shelf Science **48**, 401-414.

Gumí, T.; Oleinikova, M.; Palet, C.; Valiente, M. and Muñoz, M. (2000) *Facilitated transport of lead (II) and cadmium (II) through novel activated composite membranes containing di-(2-ethyl-hexyl)phosphoric acid as carrier*. Analytica Chimica Acta **408**, 65-74.

Gutierrez-Mas, J.M.; López-Galindo, A.; Dominguez-Bella, S.; Villanueva-Guimerans, P. and Lopez-Aguayo, F. (1994) *Geoquímica de los sedimentos recientes de la plataforma continental y bahía de Cádiz (SW de España)*. Revista de la Sociedad Geológica de España **7**, 169-178.

Hall, G.E.M.; Pelchat, J.C.; Pelchat, P. and Vaive, J.E. (2002) *Sample collection, filtration and preservation protocols for the determination of total dissolved mercury in waters*. Analyst **127**, 674-680.

Harris, D.C. (2001) *Análisis Químico Cuantitativo*. 2ª Edición. Reverté, S.A. Barcelona.

Hart, B.T. and Hines, T. (1995) *Trace elements in rivers*. In Trace elements in natural waters. Eds. B. Salbu and E. Steinnes. CRC Press, Boca Ratón

- Herath, G. (1998) *Agrochemical use and the environment in Australia. A resource economics perspective*. International Journal of Social Economics **29**, 283-301.
- Ho, W.S.W.; Poddar, T.K. and Neumuller, T.E. (2002) *Removal and recovery of copper and zinc by supported liquid membranes with strip dispersion*. Journal of the Chinese Institute of Chemical **33**, 67-76.
- Ho, W.S.W.; Wang, B.; Neumuller, T.E. and Roller, J. (2001) *Supported liquid membranes for removal and recovery of metals from waste waters and process streams*. Environmental Progress **20**, 117-121.
- Huang, S.D.; Lai, W.R. and Shih, K.Y. (1995) *Direct determination of molybdenum, chromium and manganese in seawater by graphite furnace atomic absorption spectrometry*. Spectrochimica Acta Part B **50**, 1237-1246.
- Huang, S.D. and Shih, K.J. (1995) *Direct determination of zinc in seawater by graphite furnace atomic absorption spectrometry*. Spectrochimica Acta Part B **50**, 837-846.
- IGME. (1983) *Síntesis hidrogeológica de la cuenca del Guadalquivir*. Colección Informe, IGME. Ministerio de Industria y Energía, Madrid.
- Iribar, V.; Izco, F.; Tames, P.; Antigüedad, I. and da Silva, A. (2000) *Water contamination and remedial measures at the Troya abandoned Pb-Zn mine (The Basque Country, Northern Spain)*. Environmental Geology **39**, 800-806.
- Irigoyen, L.; Moreno, C.; Mendiguchía, C. and García-Vargas, M. (2005) *Application of liquid membranes to simple preconcentration for the spectrometric determination of cadmium in seawater*. (En Revisión)
- Ivahnenko, T.; Szabo, Z. and Gibs, J. (2001) *Changes in sample collection and analytical techniques and effects on retrospective comparability of low-level concentrations of trace elements in groundwater*. Water Research **35**, 3611-3624.
- Jain, C.K. (2002) *A hydro-chemical study of a mountainous watershed: the Ganga, India*. Water Research **36**, 1262-1274.
- Jiann, K.T. and Presley, B.J. (2002) *Preservation and determination of trace metal partitioning in river water by a two-column ion exchange method*. Analytical Chemistry **74**, 4716-4724.
- Jin, Q.H.; Su, X.G.; Liang, F. and Zhang, H.Q. (1999) *Flow-injection semi-online sorbent extraction preconcentration for graphite furnace atomic-absorption spectrometry*. Microchemical Journal **62**, 316-317.
- Jonnalagadda, S.B. and Mhere, G. (2001) *Water quality of the Ozdi river in the eastern highlands of Zimbabwe*. Water Research **35**, 2371-2376.

Jordao, C.P.; Pereira, M.G. and Pereira, J.L. (2002) *Metal contamination of river waters and sediments from effluents of kaolin processing in Brasil*. Water, Air and Soil Pollution **140**, 119-138.

Jugade, R. and Joshi, A.P. (2003) *Trace determination of Ni(II) and Co(II) by adsorptive stripping voltammetry using 1-nitroso-2-naphthol*. Indian Journal of Chemistry, Section A **42**, 94-96.

Karvelas, M.; Katsoyiannis, A. and Samara, C. (2003) *Occurrence and fate of heavy metals in the wastewater treatment process*. Chemosphere **53**, 1201-1210.

Kemperman, A.J.B.; Damink, B.; Boomgaard, Th. and Strathmann, H. (1997) *Stabilization of supported liquid membranes by gelation with PVC*. Journal of Applied Polymer Science **65**, 1205-1216.

Kennish, M.J. (1997). *Estuarine and Marine Pollution*. CRC Press, Boca Ratón.

Kinrade, J.D. and Van loon, S.C. (1974) *Solvent extraction for use with flame atomic spectrometry*. Analytical Chemistry **46**, 1894-1898.

Knutsson, M.; Nilve, M.; Mathiason, L. and Jönsson, J.A. (1992) *Supported liquid membrane technique for time integrating field sampling of acidic herbicides at subparts-per-billion level in natural waters*. Journal of Agricultural and Food Chemistry **40**, 2413-2417.

Kocherginsky, N.M.; Zhang, Y.K. and Stucki, J.W. (2002) *D2EHPA based strontium removal from strongly alkaline nuclear waste*. Desalination **144**, 267-272.

Komor, S.C. (1997) *Boron content and isotopic composition of hog manure, selected fertilizers, and water in Minnesota*. Journal of Environmental Quality **26**, 1212-1222.

Laws, E.A. (2000) *Aquatic Pollution. An introductory text*. 3rd Edition. John Wiley & Sons, Inc. Nueva York.

Lee, K. and Lee, G.H. (1999) *Investigation of concentration variation of trace elements during storage and handling of solution by neutron activation analysis*. Microchemical Journal **63**, 140-153.

Leonhard, P.; Pepelnik, R.; Prange, A.; Yamada, N. and Yamada, T. (2002) *Analysis of diluted sea-water at the ng·L⁻¹ level using an ICP-MS with an octopole reaction cell*. Journal of Analytical Atomic Spectrometry **17**, 189-196.

Li, Y.; Van Loon, J.C. and Barefoot, R.R. (1993) *Preconcentration of trace elements in potable liquids by means of a liquid membrane emulsion for flame atomic absorption determination*. Fresenius Journal of Analytical Chemistry **345**, 467-470.

Lin, S.H. and Juang, R.S. (2002) *Removal of free and chelated Cu(II) ions from water by a nondispersive solvent extraction process*. Water Research **36**, 3611-3619.

- Lin, J.; Johnson, K.W. and Huang, Z. (1986) *Determination of trace metals in seawater by using graphite-furnace atomic absorption spectrometry after extraction with APDC/DDDC into Freon TF*. Huanjing Kexue **7**, 75-79.
- Linde, A.R.; Arribas, P.; Sánchez-Galán, S.; Marañón, E.; Izquierdo, J.L. and García-Vázquez, F. (1995) *Preliminary assessment and biological impact of trace metal pollution in Piles river (Spain)* Water Pollution III: Modelling, measurement and prediction. Int. Conf., 3rd, 407-414. Ed. L.C. Wrobel and P. Latinopoulos.
- Lindergard, B.; Bjork, H.; Jönsson, J.A.; Mathiasson, L. and Olsson, A.M. (1994) *Automated column liquid chromatographic determination of a basic drug in blood plasma using the supported liquid membrane technique for sample pretreatment*. Analytical Chemistry **66**, 4490-4497.
- Liu, J.; Huang, B. and Zeng, X. (1998) *Donut-shaped spray chamber for inductively coupled plasma spectrometry*. Spectrochimica Acta Part B **53**, 1469-1474.
- Liu, Z.S. and Huang, S.D. (1995) *Determination of lead in sea-water with graphite-furnace atomic-absorption spectrometer and an improved automatic online preconcentration system*. Spectrochimica Acta Part-B-Atomic Spectroscopy **50**, 197-203.
- López-Parmo, E.; Baretino, D.; Antón-Pacheco, C.; Ortiz, G.; Arránz, J.C.; Gumiel, J.C.; Martínez-Pledel, B.; Aparicio, M. and Moutouto, O. (1999) *The extent of the Aznalcóllar pyritic sludge spill and its effects on soils*. The Science of the Total Environment **242**, 57-88.
- Louie, H.; Wu, M.; Di, P.; Snitch, P. and Chapple, G. (2002) *Direct determination of trace elements in sea-water using reaction cell inductively coupled plasma mass spectrometry*. Journal of Analytical Atomic Spectrometry **17**, 587-591.
- Malcus, F.; Djane, N.; Mathiasson, L. and Johansson, G. (1996) *Automated trace enrichment and determination of metals using a combination of supported liquid membrane for sample pretreatment and graphite furnace atomic absorption spectrometry for the determination*. Analytica Chimica Acta **327**, 295-300.
- Manzano, M.; Ayora, C.; Domenech, C.; Navarrete, P.; Garrafón, A. and Turmero, M.J. (1999) *The impact of the Aznalcóllar mining tailing spill on groundwater*. The Science of the Total Environment **242**, 189-211.
- Markich, S.J. and Brown, P.L. (1998) *Relative importance of natural and anthropogenic influences on the fresh surface water chemistry of the Hawkesbury-Nepean river, south-eastern Australia*. The Science of the Total Environment **217**, 201-230.

- Marquez da Silva, A.M. and Bueno Sacomani, L. (2001) *Using chemical and physical parameters to define the quality of Pardo river water (Botucatu-Brazil)*. Water Research **35**, 1609-1616.
- Matthiessen, P.; Reed, J. and Johnson, M. (1999) *Sources and potential effects of copper and zinc concentrations in the estuarine waters of Essex and Suffolk, United Kingdom*. Marine Pollution Bulletin **38**, 908-920.
- Megersa, N.; Solomon, T. and Jönson, J.A. (1999) *Supported liquid membrane extraction for samples work-up and preconcentration of Methoxy-S-Triazine herbicides in a flow system*. Journal of Chromatography A **830**, 203-210.
- Michel, P.; Boutier, B. and Chiffolleau, J.-F. (2000) *Net fluxes of dissolved arsenic, cadmium, copper, zinc, nitrogen and phosphorous from the Gironde Estuary (France): Seasonal variations and trends*. Estuarine, Coastal and Shelf Science **51**, 451-462.
- Miller, J.N. and Miller, J.C. (2002) *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*. Pearson Educación, S.A., Madrid.
- Millward, G.E. and Turner A. (1995) *Trace metals in Estuaries*. In Trace elements in natural waters. Eds. B. Salbu and E. Steinnes. CRC Press, Boca Ratón
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. (2002) *Hechos y cifras del sector agroalimentario español*. Secretaria General Técnica. Madrid.
- Monbet, P. (2004) *Seasonal cycle and mass balance of cadmium in estuary with an agricultural catchment: the Morlaix River estuary (Brittany, France)*. Estuaries **27**, 448-459.
- Montluçon, D. and Sañudo-Wilhelmy, S.A. (2001). *Influence of netground discharge on chemical composition of a coastal environment: Flanders Bay, Long Island, New York*. Environmental Science and Technology **35**, 480-486.
- Moore, J.N. and Luoma, S.N. (1990) *Hazardous wastes from large-scale metal extraction- a case-study*. Environmental Science and Technology **24**, 1279.
- Moreau, S.; Bertru, G. And Buson, C. (1998) *Seasonal and spatial trends of nitrogen and phosphorus loads to the upper catchment of the river Vilaine (Brittany): relationships with land use*. Hydrobiologia **373/374**, 247-258.
- Moreno, C. and Valiente, M. (1999) *Studies on the mechanism of transport of lanthanide ions through supported liquid membranes containing di-(2-ethylhexyl) phosphoric acid (D2EHPA) as a carrier*. Journal of Membrane Science **155**, 155-162.
- Muller, F.L.L.; Tranter, M. and Balls, P. (1994) *Distribution and transport of chemical constituents in the Clyde estuary*. Estuarine, Coastal and Shelf Science **39**, 105-126.

- Naim, M.M. y Monir, A.A. (2003) *Desalination using supported liquid membranes*. *Desalination* **153**, 361-369.
- Navarro, M.; López, H.; Sánchez, M. and López, M.C. (1993) *The effects of industrial-pollution on mercury levels in water, soil, and sludge in the coastal area of Motril, southeast Spain*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **24**, 11-15.
- Ndung'u, K.; Djane, N.K. and Mathiasson, L. (1998) *Determination of trace-metal ions by ion-pair chromatography after enrichment using supported liquid membrane*. *Journal of Chromatography A* **826**, 103-108.
- Ndung'u, K.; Franks, R.P.; Bruland, K.W. and Flegal, A.R. (2003) *Organic complexation and total dissolved trace metal analysis in estuarine waters: comparison of solvent-extraction graphite furnace atomic absorption spectrometric and chelating resin flow injection inductively coupled plasma-mass spectrometric analysis*. *Analytica Chimica Acta* **481**, 127-138.
- Neal, C.; Robson, A.J.; Jeffery, H.A.; Harrow, M.L.; Neal, M.; Smith, C.J. and Jarvie, H.P. (1997) *Trace element inter-relationships for the Humbert rivers: inferences for hydrological and chemical controls*. *The Science of the Total Environment* **194/195**, 321-343.
- Neal, C.; Neal, M.; Wickham, H. and Harrow, M. (2000a) *The water quality of a tributary of the Thames, the Pang, southern England*. *The Science of the Total Environment* **251/252**, 459-475.
- Neal, C.; Jarvie, H.P.; Howarth, S.M.; Whitehead, P.G.; Williams, R.J.; Neal, M.; Harrow, M. and Wickham, H. (2000b) *The water quality of the river Kennet: initial observations on a lowland chalk stream impacted by sewage inputs and phosphorous remediation*. *The Science of the Total Environment* **251/252**, 477-495.
- Neal, C.; Jarvie, H.P.; Whitton, B.A. and Gemmell, J. (2000c) *The water quality of the river Wear, north-east England*. *The Science of the Total Environment* **251/252**, 153-172.
- Nelder, J.A. and Mead, R. (1965) *A simplex method for function minimization*. *Computer Journal* **7**, 308-313.
- Nelson, C.H. and Lamothe, P.J. (1993) *Heavy metals anomalies in the Tinto and Odiel river and estuary system, Spain*. *Estuaries* **16**, 496-511.
- Nilve, G.; Knutsson, M. and Jönsson, J.A. (1994) *Liquid-chromatographic determination of sulfonylurea herbicides in natural-waters after automated sample pretreatment using supported liquid membranes*. *Journal of Chromatography A* **688**, 75-82.
- Noble, R.D. and Way, J.D. (1987) *Liquid membrane technology: An overview*. In *Liquid membranes: Theory and Applications*. Eds. R.D. Noble y J.D. Way. ACS, Washington.

Nolting, R.F., Helder, W.; de Baar, H.J.W. and Gerringa, L.J.A. (1999) *Contrasting behaviour of trace metals in the Scheldt estuary in 1978 compared to recent years*. Journal of Sea Research **42**, 275-290.

Nriagu, J.O.; Lawson, G.; Wong, H.K.T. and Azcue, J.M. (1993) *A protocol for minimizing contamination in the analysis of trace metals in Great Lakes Waters*. Journal of Great Lakes Research **19**, 175-182.

Okumura, M.; Anate, T.; Fujinaga, K. and Seike, I. (2002) *A simple and rapid in situ preconcentration method using solid-phase extraction for the determination of dissolved manganese in Brackish Lake water samples*. Analytical Sciences **18**, 1093-1097.

Oleinikova, M. and Muñoz, M. (2000) *Transport of rare earth metal ions through activated composite membranes containing DEHPA*. Solvent Extraction and Ion Exchange **18**, 401-419.

O'Neill, P. (1998) *Environmental Chemistry*. 3rd Edition. Blackie Academic & Professional. London.

Ortiz, I. and San Roman, M.F. (2002) *Analysis of the back-extraction of cadmium-nickel-D2HEPA organic phases*. Separation Science and Technology **37**, 607-625.

Palenques, A.; Puig, P.; Guillen, J.; Querol, X. and Alastuey, A. (1999) *Zinc contamination in the bottom and suspended sediments of the Guadalquivir estuary after the Aznalcóllar spill (south-western Spain). Control of hydrodynamic processes*. The Science of the Total Environment **242**, 211-221.

Palmarsdottir, S.; Mathiasson, L.; Jönsson, J.A. and Edholm, L.E. (1997) *Determination of basic drug, bambuterol, in human plasma by capillary electrophoresis using double stacking for large volume injection and supported liquid membranes for sample pretreatment*. Journal of Chromatography B **688**, 127-134.

Parthasarathy, N and Buffle, J. (1994) *Capabilities of supported liquid membranes for metal speciation in natural waters- Application to copper speciation*. Analytica Chimica Acta **284**, 649-659.

Parthasarathy, N.; Buffle, J.; Gassama, N. and Cuenod, F. (1999) *Speciation of trace metals in waters: direct selective separation and preconcentration of free metal ion by supported liquid membrane*. Chemia Analityczna **44**, 455-470.

Patterson, C.C. and Settle, D.M. (1976) *The reduction of orders of magnitude errors in lead analyses of biological materials and natural waters by evaluating and controlling the extent and sources of industrial lead contamination introduced during sample collecting, handling and analysis*. In National Bureau of Standards Special Publication **422**, Accuracy in Trace Analysis : sampling; sample handling and analysis. Proceedings of the 7th IMR Symposium, Gaithersburg, MD, 321-355.

- Paux, T.; Billon, G.; Pieta, I.; Ouddanes, B.; Fischer, J.C. and Wartel, M. (2003) *Microelectrodes for in situ voltammetric determination of pollutants*. Journal of Physique IV **107**, 1413-1416.
- Petersen, W.; Geisler, C-D.; Schroeder, F. and Knauth, H-D. (1998) *AISIT- a new device for remote-controlled sampling of dissolved and particle-bound trace elements in surface waters*. Journal of Sea Research **40**, 179-191.
- Peterson, R.T. and Lamb, J.D. (1996) *Rational design of liquid membrane separations systems*. In Chemical separations with liquid membranes. Eds. R.A. Bartsch and J.D. Way. ACS, Washington.
- Pike, J.D.; Rosa, D.T. and Coucouvanis, D. (2001) *Lipophilic metal-salicylideneimine-crown ether hybrids-Ditopic carriers in the facilitated transport of amphiphilic molecules across bulk liquid membranes*. European Journal of Inorganic Chemistry **3**, 761-777.
- Ponce, R.; Ortega, T.; De la Paz, M.; Gómez-Parra, A. y Forja, J.M. (2003) *Dinámica del carbono inorgánico y sales nutrientes en el estuario del río Guadalquivir*. En *Contaminación por metales pesados del estuario del Guadalquivir*. Servicio de Publicaciones. Universidad de Cádiz.
- Prat, N.; Toja, J.; Solá, C.; Burgos, M.D.; Plans, M. and Rieradevall, M. (1999) *Effect of dumping and cleaning activities on the aquatic ecosystem of the Guadiamar river following a toxic flood*. The Science of the Total Environment **242**, 231-249.
- Quentel, F. and Fillela, M. (2002) *Determination of inorganic antimony species in seawater by differential pulse anodic stripping voltammetry: stability of the trivalent state*. Analytica Chimica Acta **452**, 237-244.
- Quinn, J.M. and Stroud, M.J. (2002) *Water quality and sediment and nutrient export from New Zealand hill-land catchments of contrasting land use*. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research **36**, 409-429.
- Ramis, G. y García, M.C. (2001) *Quimiometría*. Editorial Síntesis, S.A., Madrid.
- Ramos, L.; Fernández, M.A.; González, M.J. and Hernández, L.M. (1999) *Heavy metal pollution in water sediments and earthworms from the Ebro river, Spain*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology **63**, 305-311.
- Ravizza, G.E. and Bothner, M.H. (1996) *Osmium isotopes and silver as tracers of anthropogenic metals in sediments from Massachusetts and Cape Cod Bays*. Geochimica et Cosmochimica Acta **60**, 2753-2763.
- Reimann, C.; Siewers, U.; Skarphagen, H. and Banks, D. (1999) *Does bottle type and acid-washing influence trace element analyses by ICP-MS on water samples? A test covering 62 elements and four bottles types: high density polyethene (HDPE)*,

polypropene (PP), fluorinated ethene propene copolymer (FEP) and perfluoroalcoxy polymer (PFA). *The Science of the Total Environment* **239**, 111-130.

Rezvanianzadeh, M.R.; Yamini, Y.; Khanchi, A.R.; Ashtari, P. and Ghannadimaragheh, M. (2000) *Highly selective and efficient membrane-transport of molibdenum using di(2-Ethylhexyl) Phosphoric-Acid as a carrier*. *Separation Science and Technology* **35**, 1939-1949.

Riba, I.; DelValls, T.A.; Forja, J.M. and Gómez-Parra, A. (2002) *Evaluating the heavy metal contamination in sediments from the Guadalquivir estuary after the Aznalcóllar mining spill (SW Spain): a multivariate analysis approach*. *Environmental Monitoring and Assessment* **77**, 191-207.

Riondato, J.; Vanhaecke, F.; Moens, L. and Dams, R. (2000) *Fast and reliable determination of ultra-trace and/or spectrally interfered elements in water by sector field ICP-MS*. *Journal of Analytical Atomic Spectroscopy* **15**, 341-345.

Riso, R.D.; LeCorre, P. and Chaumery, C.J. (1997) *Rapid and simultaneous analysis of trace metals (Cu, Pb and Cd) in seawater by potentiometric stripping analysis*. *Analytica Chimica Acta* **351**, 83-89.

Rivera-Duarte, I. and Flegal, A.R. (1996) *Microtechniques for the determination of nanomolar concentrations of trace elements ≤ 10 mL of sediment porewater*. *Analytica Chimica Acta* **328**, 13-17.

Roadhes, C.B. (1996) *Clean laboratory chemistry for the microwave-assisted digestion of botanical samples*. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **11**, 751-757.

Robles-Camacho, J. and Armienta, M.A. (2000) *Natural chromium contamination of groundwater at Leon Valley, Mexico*. *Journal of Geochemical Exploration* **68**, 167-181.

Robson, A.J. and Neal, C. (1997a) *A summary of regional water quality for Easter UK rivers*. *The Science of the Total Environment* **194/195**, 173-192.

Robson, A.J. and Neal, C. (1997b) *Regional water quality of the river Tweed*. *The Science of the Total Environment* **194/195**, 173-192.

Rodier, J. (1990) *Análisis de las aguas*. Ed. Omega, Madrid.

Saenz, I.; Riba, I.; Forja, J.M.; DelValls, T.A. y Gómez-Parra, A. (2003) *Acumulación y fraccionamiento geoquímico de metales pesados en sedimentos del estuario del Guadalquivir*. En *Contaminación por metales pesados del estuario del Guadalquivir*. Servicio de Publicaciones. Universidad de Cádiz.

Safavi, A. and Shams, E. (1998) *Selective and efficient transport of Hg(II) through bulk liquid membrane using methyl red as carrier*. *Journal of Membrane Science* **144**, 37-43.

- Safavi, A.; Peiravian, F. and Shams, E. (2002) *A selective uphill transport of copper through bulk liquid membrane using Janus Green as an anion carrier*. Separation and Purification Technology **26**, 221-226.
- Salbu, B. and Oughton, D.H. (1995) *Strategies of Sampling, Fractionation and Analysis*. In Trace elements in natural waters. Eds. B. Salbu and E. Steinnes. CRC Press, Boca Raton.
- Sancho, F. (2001) *Medio ambiente urbano y calidad de vida: visión integral de Sevilla como ciudad habitable. Prediagnóstico. Mesa Temática 3*. Documentos previos al Plan de Ordenación Territorial de Sevilla. (www.plandesevilla.org)
- Sandah, M.; Mathiasson, L. and Jonsson, J.A. (2002) *On-line automated sample preparation for liquid chromatography using parallel supported liquid membrane extraction and microporous membrane liquid-liquid extraction*. Journal of Chromatography A **975**, 211-217.
- Sañudo-Wilhelmy, S.A. and Flegal, A.R. (1992) *Anthropogenic silver in the southern California Bight- a new tracer of sewage in coastal waters*. Environmental Science and Technology **26**, 2147-2151.
- Sañudo-Wilhelmy, S.A. and Gill, G.A. (1999) *Impact of the Clean Water Act on the levels of toxic metals in urban estuaries: The Hudson river estuary revisited*. Environmental Science and Technology **33**, 3477-3481.
- Sarthou, G.; Jeandel, C.; Brisset, L.; Amouroux, D; Besson, T. and Donard, O.F.X. (1997) *Fe and H₂O₂ distributions in the upper water column in the Indian Sector of the Southern Ocean*. Earth and Planetary Science Letters **147**, 83-92.
- Schell, C., Macklin, M.G. and Hudson-Edwards, K.A. (1996) *Flood dispersal and alluvial storage of heavy metals in an acid ephemeral river: Rio Tinto, Huelva, SW Spain*. Proc. Int. Symp. Geochem. Earth's Surf., 4th, 475-479. Ed. S.H. Bottrell.
- Scheren, P.A.G.M.; Kreze, C.; Janssen, F.J.J.C.; Hordijk, L. and Ptasinski, K.J. (2004) *Integrated water pollution assessment of the Ebrié Lagoon, Ivory Coast, WestAfrica*. Journal of Marine Systems **44**, 1-17.
- Schlosser, S. y Sabolova, E. (2002) *Three-phase contactor with distributed U-shaped bundles of hollow-fibers for pertraction*. Journal of Membrane Science **210**, 331-347.
- Schlosser, S. (1993) *Pertraction through liquid membranes and transport mechanisms I. Types of liquid membranes and transport mechanisms*. The COMETT II course "Advance course on membrane technology". Universidad de Calabria, Italia.
- Sekaly, A.L.R.; Chakrabarti, C.L.; Back, M.H.; Gregoire, D.C.; Lu, J.Y. and Schroeder, W.H. (1999) *Stability of dissolved metals in environmental aqueous samples: Rideau River surface water, rain and snow*. Analytica Chimica Acta **402**, 223-231.

Shen, Y.; Mathiasson, L. and Jönsson, J.A. (1998) *Automated capillary GC determination of local anesthetics in plasma samples with supported liquid membranes for sample preparation*. Journal of Microcolumn Separations **10**, 107-113.

Simón, M. ; Ortiz, I.; García, I.; Fernández, E.; Fernández, J.; Dorronsoro, C. and Aguilar, J. (1999) *Pollution of soils by the toxic spill of a pyrite mine (Aznalcóllar, Spain)*. The Science of the Total Environment **242**, 105-116.

Skoog, D.A. y Leary, J.J. (1994) *Análisis instrumental*. 4ª Edición. McGraw-Hill, Madrid.

Skoog, D.A.; West, D.M. y Holler, F.J. (1995) *Química Analítica*. 6ª Edición. McGraw-Hill, Madrid.

Sliva, L. and Williams, D.D. (2001) *Buffer zones versus whole catchment approaches to studying land use impact on river water quality*. Water Research **35**, 3462-3472.

Sliwka-Kaszynska, M; Kot-Wasik, A. and Namiesnik, J. (2003) *Presevation and storage of water samples*. Critical Reviews in Environmental Science and Technology **33**, 31-44.

Sohrin, Y; Fujishima, Y; Chiba, A. and Ishila, T. (2001) *Development of a multielemental determination of ultratrace metals in seawater*. Bunseki Kagaku **50**, 369-382.

Soko, L.; Chimuka, L.; Cukrowska, E. and Pole, S. (2003) *Extraction and preconcentration of manganese (II) from biological fluids (water, milk and blood serum) using supported liquid membrane and membrane probe methods*. Analytica Chimica Acta **485**, 25-35.

Soldenhoff, K. and McCulloch, J. (2002) *Transport of neodymium with flat sheet contained liquid membrane using octyl(phenyl)-N,N-diisobutylcarbamolymethyl phosphine oxide*. Separation Science and Technology **37**, 2987-3009.

Spendley, W.; Hext, G.R. and Himsworth, F.R. (1962) *Sequential application of simplex in optimisation and evolutionary operation*. Technometrics **4**, 441

Su, P. and Huang, S.D. (1998) *Direct and simultaneous determination of copper and manganese in seawater with a multielement graphite furnace atomic absorption spectrometer*. Spectrochimica Acta Part B **53**, 699-708.

Suñer, M.A.; Devesa, V.; Muñoz, O. and Montoso, R. (1999) *Total and inorganic arsenic in the fauna of the Guadalquivir estuary: environmental and human health*. The Science of the Total Environment **242**, 261-271.

Taylor, M.J.C.; Barnes, D.E. and Marshall, G.D. (1992) *Trace gold determination in cyanide process solutions-preconcentration using supported liquid membranes in a flow injection manifold*. Analytica Chimica Acta **265**, 71-79.

- Teramoto, M.; Takeuchi, N.; Maki, T. and Matsuyama, H. (2001) *Gas separation by liquid membrane accompanied by permeation of membrane liquid through membrane physical transport*. Separation and Purification Technology **24**, 101-112.
- Terrés-Martos, C.; Navarro-Alarcón, M.; Martín-Lagos, F.; Jiménez-Martínez, R.; López-García de la Serrana, H. and López-Martínez, M.C. (2002) *Determination of zinc levels in waters from southeastern Spain by electrothermal atomic absorption spectrometry: relationship with industrial activity*. Water Research **36**, 1912-1916.
- Thomas, R. (2002) *A Beginner's Guide to ICP-MS. Part XII. A Review of Interferences*. Spectroscopy **17**, 24-31.
- Todolí, J.L.; Maestre, S.; Mora, J.; Canals, A. and Hernandis, V. (2000) *Comparison of several spray chambers operating at very low liquid flow rates in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry*. Fresenius Journal of Analytical Chemistry **368**, 773-779.
- Todorovic, Z.; Polic, P.; Sabo, T. and Cakic, M. (2002) *Preconcentration method for trace metals in natural waters using 4-morpholine dithiocarbamate*. Journal of the Serbian Chemical Society **67**, 879-885.
- Tokalioglu, S. and Kartal, S. (2002) *Chemometrical interpretation of lake waters after their chemical analysis by using Aas, flame photometry and titrimetric techniques*. International Journal of Environmental Analytical Chemistry **82**, 291-305.
- Tovar, A.; Moreno, C.; Manuel-Vez, M.P. and García-Vargas, M. (2000) *Environmental impacts of intensive aquaculture in marine waters*. Water Research **34**, 334-342.
- Tovar, A.; Moreno, C.; Manuel-Vez, M.P. and García-Vargas, M. (2002) *A simple automated method for the speciation of dissolved inorganic nitrogen in seawater*. Analytica Chimica Acta **469**, 235-242.
- Trocewicz, J. (1996) *Determination of herbicides in surface water by means of a supported liquid membrane technique and high-performance liquid chromatography*. Journal of Chromatography A **725**, 121-127.
- Truzzi, C.; Lambertucci, L.; Gambini, G. and Scarponi, G. (2002) *Optimization of square wave anodic stripping voltametry (SWASV) for the simultaneous determination of Cd, Pb and Cu in seawater and comparison with differential pulse anodic stripping voltammetry (DPASV)*. Annali di Chimica **92**, 313-326.
- Uriel, E. (1995) *Análisis de datos. Series temporales y análisis multivariante*. Colección Plan Nuevo. Ed. AC, Madrid.

Valenzuela, F.; Salinas, C.; Basualto, C.; Sapag-Hagar, J. and Tapia, C. (2003) *Influence of nonionic surfactant compound on coupled transport of copper (II) through a liquid membrane*. Journal of the Chilean Chemical Society **48**, 79-84.

Van Geen, A. and Chase, Z. (1998) *Recent mine spill adds to contamination of southern Spain*. Eos, Transactions, American Geophysical Union **79**, 449.

Van Geen, A.; Takesue, R. and Chase, Z. (1999) *Acid mine tailings in southern Spain*. The Science of the Total Environment **242**, 221-231.

Vidal, M.; López-Sánchez, J.F.; Sastre, J.; Jiménez, G.; Dagnat, T.; Rubio, R. and Rauret, G. (1999) *Prediction of the impact of the Aznalcóllar toxic spill on the trace element contamination of agricultural soils*. The Science of the Total Environment **242**, 131-149.

Villalba, M.; Delarosa, F.J.B.; Rodríguez, M.T. and Sánchez, J.C.J. (1995) *Hydrochemical study of an aquifer system in an agricultural area in south-west Spain*. Water Research **29**, 1361-1372.

Visauta, B. (1998) *Análisis estadístico con SPSS para Windows. Vol. I y II*. McGraw-Hill/Interamericana de España, Madrid.

Volpe, A.M.; Esser, B.K. and Bianchini, G. (2001) *Real-time ocean chemical measurement: at-sea ICP-MS experiments*. Journal of Analytical Atomic Spectroscopy **16**, 801-805.

Wang, Z.L. and Liu, C.Q. (2003) *Distribution and partition behaviour of heavy metals between dissolved and acid-soluble fractions along a salinity gradient in the Changjiang Estuary, eastern China*. Chemical Geology **202**, 383-396.

Wang, Z.X.; Li, Y.M.; Li, Y.T.; Vanloon, J.C. and Barefoot, R.R. (1994) *The separation and enrichment of trace levels of palladium in water by liquid membrane containing Tri-N-Octylamine*. Analytical Letters **27**, 957-968.

Willie, S.N.; Lam, J.W.H.; Yang, L. and Tao, G. (2001) *On line removal of Ca, Na and Mg from iminodiacetate resin for the determination of trace elements in seawater and fish otoliths by flow injection ICP-MS*. Analytica Chimica Acta **447**, 143-152.

Withers, P.J.A. and Lord, E.I. (2002) *Agricultural nutrient inputs to rivers and groundwaters in the UK: policy, environmental management and research needs*. The Science of the Total Environment **282-283**, 9-24.

Worrall, F. and Burt, T.P. (1998) *Decomposition of river water nitrate time-series-comparing agricultural and urban signals*. The Science of the Total Environment **210**, 153-162.

Xue, H.; Sigg, L. and Gächter, R. (2000) *Transport of Cu, Zn and Cd in a small agricultural catchment*. Water Research **34**, 2558-2568.

Yang, M. and Sañudo-Wilhelmy, S.A. (1998) *Cadmium and manganese distributions in the Hudson river estuary: interannual and seasonal variability*. Earth and Planetary Science Letters **160**, 403-418.

Yang, L. and Sturgeon, R.E. (2002) *On line determination of silver in sea-water and marine sediments by inductively coupled plasma mass spectrometry*. Journal of Analytical Atomic Spectrometry **17**, 88-93.

Younger, P.L. (2002) *Mine water pollution from Kernow to Kwazulu-Natal: geochemical remedial options and their selection in practice*. Geoscience in south-west England **10**, 255-266.

Zar, J.H. (1984) *Biostatistical Analysis*. Englewood Cliffs, N.J., Prentice-Hall Internacional.

Zayats, G.D.; Meryan, V.T.; Revenco, M.D. and Chiugureanu, D.G. (2002) *Determination of lead by adsorptive stripping voltammetry in the presence of 2,2-dipyridyl-2, 4-dioxybenzoic acid molecular complex*. Analytical Letters **35**, 577-584.

Zhang, J. (2002) *Biogeochemistry of Chinese estuarine and coastal waters: nutrients, trace metals and biomarkers*. Regional Environmental Change **3**, 65-76.

Zangh, B. and Gozzelino, G. (2003) *Facilitated transport of Fe(III) and Cu(II) ions through supported liquid membranes*. Colloids and Surfaces A-Physicochemical and Engineering Aspects **215**, 67-76.

Zwolsman, J.J.G.; Van Eck, B.T.M. and Van Der Weijden, C.H. (1997) *Geochemistry of dissolved trace metals (cadmium, copper, zinc) in the Scheldt estuary, southwestern Netherlands: Impact of seasonal variability*. Geochimica et Cosmochimica Acta **61**, 1635-1652.