

ESTIMACIÓN DE LA FRACCIÓN TOTAL Y BIODISPONIBLE DE ISÓMEROS DE HEXACLOROCICLOHEXANO EN UN SUELO CONTAMINADO

B. Rodríguez-Garrido¹, P. Santos Ucha², F. Macías Vázquez², C. Monterroso Martínez².

¹Instituto de Investigaciones Agrobiológicas de Galicia (IIAG), CSIC. Apdo. 122. Santiago de Compostela, 15780. España. beatriz@iiag.csic.es

²Dpto. Edafología e Química Agrícola, Facultade de Bioloxía, Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, 15782. España.

Resumen. El objetivo de este trabajo es evaluar la eficiencia de distintos métodos de extracción en la determinación del contenido “total” y “biodisponible” de isómeros de hexaclorociclohexano (HCH) en suelos con contaminación real. Para ello se seleccionaron 9 muestras de un perfil abierto en una parcela afectada por el vertido de residuos de fabricación de lindano en O Porriño (Pontevedra). Para la estimación de la concentración total de HCH se compararon dos de los métodos más ampliamente utilizados para el análisis de contaminantes orgánicos hidrofóbicos: extracción con disolventes orgánicos en un equipo de líquidos presurizados ASE⁰ 200 y en ultrasonidos. La fracción biodisponible se estimó a partir de dos extracciones acuosas diferentes: una utilizando una resina XAD-2 como agente secuestrante y otra utilizando agua en un equipo ASE⁰ 200. El contenido de HCH total extraído con ASE ($\text{HCH}_{\text{ASEt}} = \alpha + \beta + \gamma + \delta - \text{HCH}_{\text{ASEt}}$), oscilaba entre 25,4 y 350,4 mg kg⁻¹, con un valor medio de 178,2 mg kg⁻¹. El método de extracción con ultrasonidos resultó ser claramente ineficiente para estimar el contenido total de isómeros de HCH en los suelos de este estudio, con un elevado nivel de contaminación. Las dos extracciones acuosas dieron resultados similares, con una elevada correlación entre ambos métodos. Estos métodos mostraban que una parte muy importante del contaminante era potencialmente biodisponible y generaba riesgo de lixiviación.

Palabras clave: contaminantes orgánicos hidrofóbicos, lindano, biodisponibilidad, XAD, ASE

INTRODUCCIÓN

El término genérico de contaminantes orgánicos hidrofóbicos (COHs) incluye una gran cantidad de compuestos orgánicos poco solubles en agua y bastante resistentes a la degradación biológica, química y fotolítica (Semple et al., 2003), entre ellos se encuentra el lindano y otros isómeros de hexaclorociclohexano (HCH). El lindano (γ -hexaclorociclohexano o γ -HCH) es un pesticida organoclorado de amplio espectro que se ha usado extensivamente para el control de plagas en agricultura y medicina (Li et al., 1998). Se obtiene del refinamiento de HCH-técnico, proceso que produce una elevada cantidad de residuos de HCH que contienen principalmente los

isómeros α -HCH y β -HCH que, junto al lindano, se convierten en contaminantes medioambientales clasificados por la OMS como «moderadamente peligrosos» (OMS, 1991) debido a su naturaleza altamente persistente y a su toxicidad (Abhilash et al., 2008; Willett et al., 1998). Debido a su uso generalizado, los isómeros del HCH han penetrado en casi todos los ecosistemas (Walker et al., 1999), lo que ha dado lugar a un problema medioambiental mundial.

El suelo juega un papel muy importante en el destino y comportamiento de los COHs y es el principal sumidero medioambiental de estos compuestos (Semple et al., 2003). Después de llegar al suelo los contaminantes orgánicos pueden eliminarse por degradación, lixiviación o volatilización, o pueden

acumularse en la biota del suelo o ser retenidos en las fracciones mineral o materia orgánica del suelo. El destino y comportamiento de los COHs en el suelo está controlado por varios factores, incluyendo el tipo de suelo (principalmente contenido y naturaleza de la materia orgánica y mineral) y las propiedades fisicoquímicas de los contaminantes (solubilidad en agua, polaridad, lipofilidad, estructura molecular, etc.) (Reid et al., 2000; Semple et al., 2003).

La movilidad y biodisponibilidad de los contaminantes es un factor clave que determina su transferencia al medio hídrico y biológico y condiciona el resultado final de las técnicas de biocorrección. El término biodisponibilidad se refiere a la fracción de un compuesto accesible a organismos vivos, para su asimilación, transformación o posible toxicidad (Alexander, 2000). A medida que aumenta el tiempo de permanencia en el suelo, los procesos de retención de los contaminantes en la matriz edáfica se ven favorecidos y su biodisponibilidad disminuye; a este fenómeno se le conoce como envejecimiento o efecto "aging" (Alexander, 2000). Si bien el proceso natural de la retención de COHs en el suelo disminuye su biodisponibilidad y, por tanto, la eficiencia de las acciones de biocorrección que se puedan llevar a cabo (Pignatello y Xing, 1996), este proceso puede contemplarse como una vía mediante la cual se reduce el riesgo de toxicidad y lixiviabilidad de los mismos (Kanazawa, 1989).

Debido a esto los COHs presentan problemas particulares en el análisis ambiental. Por un lado, los métodos analíticos utilizados para cuantificar la cantidad de contaminante presente en un suelo pretenden extraer la máxima cantidad de contaminante presente. Para ello, generalmente, se usan condiciones de extracción muy vigorosa con disolventes orgánicos, sin embargo, el efecto "aging" provoca la reducción de la extractabilidad del contaminante y la concentración total es a veces infraestimada,

produciéndose desacuerdos importantes entre distintos métodos. Por otro lado, estos métodos no reflejan la cantidad de contaminante biodisponible, ni la disminución de su disponibilidad con el tiempo, de este modo se puede sobreestimar la magnitud del riesgo medioambiental y social de estos contaminantes (Alexander, 2000). Por tanto, es necesario desarrollar nuevos métodos para la estimación de la biodisponibilidad.

Sólo recientemente se ha prestado especial atención a los métodos de extracción selectiva no exhaustiva para estimar la biodisponibilidad de los COHs en el suelo y el riesgo de lixiviación. La investigación del comportamiento y la biodisponibilidad de contaminantes en el suelo es esencial para entender el riesgo que representa un contaminante y los medios requeridos para una corrección adecuada (Semple et al., 2003). La extractabilidad de un compuesto puede ser operacionalmente definida por la naturaleza de los extractantes usados y las condiciones experimentales bajo las que se realiza la extracción (Tao et al., 2004). Si los mecanismos de liberación durante la extracción química de COHs son similares a los sistemas de liberación durante la absorción biológica, entonces la extracción no exhaustiva podría dar una medida cuantitativa de la fracción biodisponible. Partiendo de la base de que los organismos absorben los contaminantes a partir de la fase acuosa del suelo, el agua debería ser el disolvente más apropiado para estimar esta fracción. Sin embargo, la baja solubilidad acuosa de los COHs podría hacer que la biodisponibilidad sea infraestimada cuando la extracción es estática y se realiza en condiciones ambiente. Una alternativa es introducir un secuestrante en el sistema de extracción, como una resina sintética (ej. XAD-2, tenax, etc) que actuaría como sumidero, desplazando de forma continua el equilibrio del contaminante en el sistema suelo-agua hasta que la desorción se complete. Este método podría dar una estimación de la

disponibilidad potencial del contaminante y fue correlacionado en numerosos trabajos con procesos de mineralización y bioacumulación (Lu et al., 2006, Simpson et al., 2006; Lei et al., 2004). Alternativamente, el agua puede ver aumentada su capacidad solvente de compuestos no iónicos cuando se utiliza a elevada presión y temperatura en condiciones subcríticas. Al aumentar la temperatura del agua bajo presiones moderadas (5-20 MPa), que permiten el mantenimiento en su estado líquido, los puentes hidrógeno se debilitan y la polaridad del agua desciende drásticamente (Smith, 2006). La polaridad del agua, descrita por su constante dieléctrica (ϵ), a temperatura ambiente y presión atmosférica es muy elevada ($\epsilon = 80$). Aumentando la temperatura a 250 °C (con una presión suficiente para mantener el agua en estado líquido, $P > 4$ MPa) su constante dieléctrica es 27, un valor que está entre el etanol ($\epsilon = 24$) y el metanol ($\epsilon = 33$) a 25 °C (Yang et al., 1997; Miller et al., 1998). Hallgren et al. (2006) encontraron una gran coincidencia en la estimación de la fracción biodisponible de policlorobifenilos (PCBs) en suelos contaminados mediante su extracción con agua subcrítica (50°C, 35 MPa) y mediante el análisis de bioacumulación de los contaminantes en lombrices de tierra.

El principal objetivo de este trabajo es evaluar la eficiencia de distintos métodos en la determinación del contenido “total” y “biodisponible” de isómeros de hexaclorociclohexano en suelos afectados por el vertido de residuos de fabricación de lindano.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para este trabajo se utilizaron suelos procedentes de una parcela contaminada del entorno del polígono de Torneiros (O Porriño, Pontevedra), un foco secundario de vertidos de residuos de una antigua fábrica de lindano durante la década de los 50. El suelo de la zona deriva de sedimentos aluviocolumviales

recientes, de textura heterogénea con abundancia de fragmentos gruesos de origen granítico y cuarzo filoniano. La superficie original de la parcela fue enterrada por material exógeno heterogéneo, transportado antrópicamente, observándose en la zona de contacto una capa discontinua de residuos visibles de HCH (Fig. 1). Estos suelos se pueden clasificar como *Tecnosoles úrbicos* y *Regosoles técnicos* (IUSS Working Group, 2007). La permeabilidad, aunque muy variable, parece limitada en profundidad, lo que se manifiesta por los frecuentes encharcamientos, especialmente de la parte más baja de la parcela. El drenaje lateral parece estar favorecido a través de las zonas con mayor abundancia de fragmentos gruesos.



FIGURA 1. Detalle del perfil C4 de una parcela contaminada con residuos de fabricación de lindano en O Porriño (Pontevedra) utilizado para este estudio

En una calicata de 1,5 m de profundidad (C4, Fig. 1), abierta en una de las zonas de la parcela de mayor concentración de residuos de HCH, se tomaron 9 muestras de suelo a distintas profundidades, eliminando para este estudio las zonas en contacto directo con los residuos visibles de HCH.

Análisis generales de suelos

Las muestras de suelo fueron secadas al aire y tamizadas por 2 mm, y una alícuota fue molida en molino de ágata. Se realizaron medidas de pH en suspensión con H₂O y KCl 0,1M (relación suelo:disolución 1:2,5); los contenidos de carbono orgánico y nitrógeno se analizaron por combustión en un analizador LECO (modelo CHN-1000 LECO Corp., St Joseph, MI); la medida de los cationes de cambio (Ca, Mg, Na, K y Al) se realizó por espectrometría de absorción/emisión atómica de llama (Perkin Elmer 1100) tras su extracción con NH₄Cl 1M (Peech et al., 1947) y la capacidad de intercambio catiónico efectiva (CIC_e) se obtuvo por la suma de cationes.

Extracción de los isómeros de HCH

Para la extracción del contenido "total" de los isómeros de HCH en los suelos contaminados se aplicaron dos de los métodos más ampliamente utilizados para el análisis de contaminantes orgánicos hidrofóbicos propuestos por la U.S. EPA. En primer lugar se realizó una extracción con líquidos a presión usando un equipo ASE[®] 200 (Accelerated Solvent Extractor) (Dionex Co. Sunnyvale, CA, USA). Ésta es una técnica para extracción en muestras sólidas, en principio similar a la extracción soxhlet, pero la elevada presión y temperatura alcanzadas con ASE hacen que la extracción sea completa en poco tiempo y con una menor cantidad de disolvente (Gan et al., 1999). Las extracciones se llevaron a cabo con 0,1 g de muestra mezclada y homogenizada con 10 g de arena de cuarzo,

que se usa como agente dispersante y de relleno del hueco sobrante de la celda. A continuación la muestra se introdujo en una celda de aluminio de 11 ml a la que se colocó un filtro de fibra de vidrio. La extracción se realizó con hexano:acetona (1:1) a una temperatura de 100 °C, presión 13,8 MPa (2000 psi), 5 minutos de precalentamiento seguidos de 5 minutos de extracción estática y 60 segundos de tiempo de purga (método EPA 3545A (U.S. EPA, 2000)). En el segundo método se realizó una extracción de 0,2 g de suelo con 20 ml de una disolución hexano:acetona (1:1) durante 40 min en un baño de ultrasonidos (método EPA 3550C (U.S. EPA, 2000)). El sobrenadante se filtró y enrasó a 25 ml. Todos los extractos obtenidos se secaron con sulfato sódico anhidro (Na₂SO₄) y se resevaron para su posterior análisis de isómeros de HCH.

Para realizar el estudio de extracción de la "fracción lábil" de los isómeros de HCH en el suelo (fracción biodisponible) se realizó una extracción en agua usando la resina XAD-2 como agente "secuestrante" de los isómeros de HCH. La amberlita XAD-2 es una resina no polar, es un copolímero hidrofóbico de estireno-divinilbenceno que ha sido utilizado para la extracción y concentración de contaminantes orgánicos hidrofóbicos de muestras acuosas (Northcott y Jones, 2001). Se usó 0,1 gramo de cada una de las muestras, 20 ml de agua destilada y 0,1 gramo de resina, y se dejó durante 24 horas en agitación. La resina se introdujo en una bolsa de nylon, cuyo tamaño de poro no permitía que los granos de la misma salieran a la disolución, para facilitar su manipulación en los sucesivos pasos experimentales. Tras las 24 horas de agitación se extrajeron con hexano los isómeros de HCH retenidos en la resina dejando la mezcla 1 hora en ultrasonidos. Los extractos orgánicos se secaron con sulfato sódico anhidro y se conservaron en nevera para su posterior análisis cromatográfico.

Tabla 1. Propiedades generales de los suelos de estudio

Mues- tra	Prof. cm	Horiz.	pH agua	pH KCl	Al ³⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺	K ⁺	ClCe	% Al cam- bio	% C	% N	C/N
					cmol _c kg ⁻²									
C4 0			4,9	4,2	3,21	2,80	0,08	0,04	0,07	6,20	51,77	6,60	0,32	20,6
C4 I	0-10	Ap1	5,4	4,8	0,4	8,80	0,26	0,17	0,54	10,17	3,93	4,38	0,29	15,1
C4 II	10-20	Ap2	5,6	4,8	0,54	6,80	0,48	0,19	0,15	8,16	6,62	3,73	0,26	14,3
C4 III	20-36	Ap3	5,8	4,9	0,44	8,40	0,51	0,21	0,10	9,66	4,55	3,48	0,22	15,8
C4 IV	36-46	Ap4	5,9	5,2	0,12	10,00	0,31	0,19	0,09	10,71	1,12	3,28	0,24	13,7
C4 XL	46-48	HCH visible	4,3	4,0	3,16	3,80	0,09	0,15	0,07	7,27	43,47	7,19	0,29	24,8
C4 V	48-57	2A1	4,8	4,3	3,23	0,90	0,03	0,11	0,06	4,33	74,60	5,54	0,25	22,2
C4 VI	57-67	2A2	4,9	4,4	2,59	0,72	0,03	0,13	0,05	3,52	73,58	4,52	0,20	22,6
C4 VII	67-75	2AB	4,9	4,5	1,31	0,18	0,01	0,10	0,06	1,66	78,92	1,57	0,02	78,5
C4 VIII	75-85	2B1	5,0	4,5	0,47	0,23	0,01	0,11	0,05	0,87	54,02	0,62	0,02	31,0
C4 IX	85-95	2B2	5,0	4,6	0,25	0,22	0,02	0,10	0,06	0,65	38,46	0,32	0,02	16,0

Como método de comparación se realizó alternativamente una extracción con agua supercrítica usando el equipo ASE® 200. La extracción se realizó sobre 0,1 g de muestra mezclada y homogenizada con 10 gramos de arena de cuarzo. Las condiciones de extracción fueron: agua destilada a 60 °C, presión 10,3 MPa (1500 psi), 5 minutos de precalentamiento seguidos de 5 minutos de extracción estática y 60 segundos de tiempo de purga. Los extractos acuosos obtenidos se extrajeron con hexano en ultrasonidos, para su posterior análisis cromatográfico.

La identificación y cuantificación de los isómeros de HCH se realizó usando un cromatógrafo de gases (modelo GC 8532 Mega 2 series, Fisons Instruments, Milán, Italia), equipado con un ECD (detector de captura electrónica, modelo ECD 850, Thermo Quest, Milán, Italia) y un muestreador automático (modelo AS 800, Fisons Instruments, Milán, Italia). Se trabajó con un inyector de split/splitless en modo splitless y el volumen de inyección fue de 1 µl. Para la separación se usó una columna capilar BP×35 de sílice fundida de 0,25 mm × 30 m. Como gas portador se usó helio, con una presión de 115 Kpa y como gas auxiliar del detector N₂, con una presión de 105 KPa.

La temperatura del inyector fue de 270 °C y la del detector de 300 °C. Se trabajó en condiciones de gradiente de temperatura, el programa utilizado fue: 60 °C (1 min), una rampa de temperatura de 30 °C min⁻¹ hasta alcanzar los 180 °C, luego hasta 230 °C con una rampa de 6 °C min⁻¹ y finalmente con una rampa de 30 °C min⁻¹, hasta 270 °C (4 min), al terminar la temperatura descendía de nuevo a 60 °C.

Las concentraciones de HCH obtenidas tras las distintas extracciones se identificaron de la siguiente forma: HCH_{ASEt} (fracción total extraída con hexano:acetona en ASE), HCH_{US} (fracción total extraída con hexano:acetona en ultrasonidos), HCH_{XAD} (fracción biodisponible extraída con XAD-2), HCH_{ASEb} (fracción biodisponible extraída con agua en ASE),

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Propiedades generales de los suelos

En la Tabla 1 se recogen las propiedades fisicoquímicas de las muestras de suelo analizadas. En concordancia con la heterogeneidad de la zona, las propiedades fisico-químicas son muy variables en profundidad, aunque de forma general es un

suelo ácido (pH=4,3-5,9), con baja capacidad de intercambio catiónico (CIC<10 cmol_ckg⁻¹) y elevada saturación de aluminio en el complejo de cambio. El porcentaje de carbono oscilaba entre 0,3 y 7,2 y la relación C/N es siempre superior a 13, alcanzando valores de 24,8, lo que refleja una mala humificación de la materia orgánica. El horizonte Ap, identificado como alóctono, presenta menor acidez, mayor CIC y menor saturación de Al en el complejo de cambio. Los valores más bajos de pH han sido obtenidos en las muestras en las que se han identificado visualmente restos de HCH (4,3 en C4 XL).

Contenido total de isómeros de HCH

En la Fig. 2 se representa la “concentración total” acumulada de los cuatro isómeros principales de HCH obtenida por los dos métodos utilizados de extracción con disolventes orgánicos: extracción en ASE (Fig. 2a) y en ultrasonidos (Fig. 2b).

El contenido total de HCH extraído con ASE (HCH_{ASEt}), obtenido por la suma de los cuatro isómeros extraídos con el primer método (α -+ β -+ γ -+ δ -HCH_{ASEt}), oscilaba entre 25,4 y 350,4 mg kg⁻¹, con un valor medio de 178,2 mg kg⁻¹. Las concentraciones más

elevadas se obtuvieron en los horizontes 2A₁, superficie original de la parcela sobre la que los restos de HCH son visibles, y en Ap₃. Los valores más bajos se encontraron en los horizontes más profundos. En todos los casos, el isómero α -HCH_{ASEt} es el mayoritario, con valores entre 23,0 y 288,1 mg kg⁻¹ (media de 147,1 mg kg⁻¹), seguido del isómero β -HCH_{ASEt} que oscila entre 1,75 y 66,5 mg kg⁻¹ (media de 23,8 mg kg⁻¹), lo que representa entre un 63 y 91% y entre un 5 y un 30% de α - y β -HCH_{ASEt}, respectivamente, respecto a HCH_{ASEt}.

La importancia de la vegetación en el ciclo del contaminante se pone de manifiesto al observar los datos obtenidos para las muestras con restos vegetales (muestra C4-0). Aquí la concentración de HCH es considerablemente mayor que en el horizonte A subyacente, produciéndose un enriquecimiento entre 1,4 y más de 30 veces según el isómero. El enriquecimiento relativo es proporcionalmente más elevado para el isómero β , que representa un 15% de HCH_{ASEt} en el horizonte Ap₁ y pasa a un 30% en el horizonte O. El análisis de HCH en muestras de plantas vivas recogidas en el entorno de este perfil (Barriada-Pereira

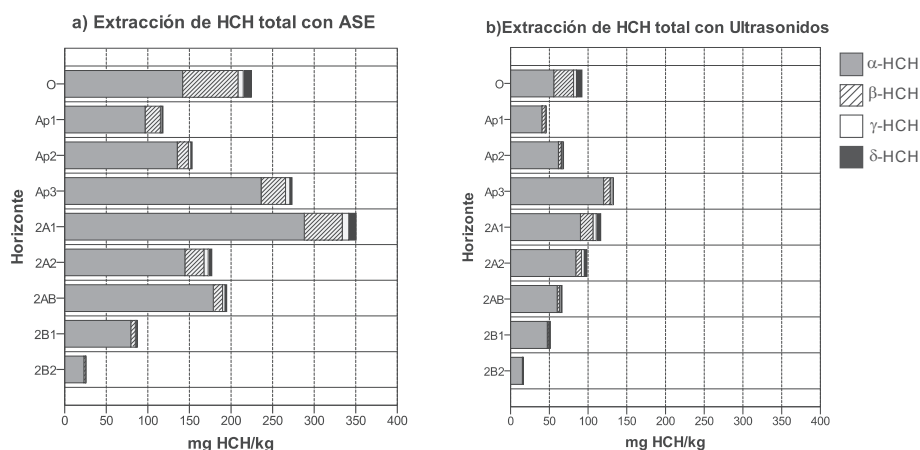


FIGURA 2. Concentración total de isómeros de HCH obtenida por extracción con disolventes orgánicos en a) equipo de extracción de líquidos presurizados ASE, y b) ultrasonidos.

et al., 2003; Calvelo et al., 2006) confirmó el enriquecimiento proporcionalmente más importante para β - que para α -HCH en tejidos vegetales. Aunque menor, también se observó enriquecimiento de δ -HCH. Por el contrario, el isómero α es proporcionalmente más importante en los horizontes más profundos, en los que representa más del 90% de HCH_{ASEt} . El isómero β es el más lipofílico y presenta una elevada afinidad por la materia orgánica, lo que justificaría una retención relativamente mayor en los horizontes superficiales. Esto es coherente con la elevada correlación obtenida entre el porcentaje de β -HCH y el contenido en carbono ($r=0,83$, $p>0,01$).

Las concentraciones de HCH obtenidas tras la extracción con disolvente en ultrasonidos (HCH_{US}) eran sensiblemente más bajas que las obtenidas por ASE para los cuatro isómeros y en todas las muestras (Fig. 2b). La recuperación de HCH_{US} frente a HCH_{ASEt} oscilaba entre 32 y 67%, con valor medio de 46%. A pesar de ello se obtuvieron correlaciones significativas entre los dos métodos para α - β - y δ -HCH ($r=0,88$, $0,99$ y $0,95$, respectivamente). La eficiencia de extracción ($\text{HCH}_{\text{US}} / \text{HCH}_{\text{ASEt}}$) correlacionaba negativamente con la concentración total del contaminante (HCH_{ASEt}) ($r^2=0,88$, $p<0,05$), obteniéndose la mayor eficiencia de extracción con ultrasonidos en los horizontes profundos, en los que la contaminación era menor. En estas muestras coincidía, además, un bajo contenido de materia orgánica. Esta tendencia era generalizable para los isómeros α -, γ - y δ -HCH, para los que se obtuvo correlaciones significativas entre el porcentaje de recuperación por US y la concentración total HCH_{ASEt} ($r^2=0,74$, $0,76$ y $0,84$, respectivamente). Por el contrario, la recuperación de β -HCH con ultrasonidos siempre fue muy baja (<40%), independientemente de su concentración en el suelo. Sólo se alcanzaron puntualmente valores similares con los dos métodos en

la extracción de los isómeros minoritarios (γ - y δ -HCH) en las muestras con menor contaminación.

Estos resultados reflejan la superioridad de extracción del método de ASE, puesto que es un método mucho más vigoroso que la sonicación. La técnica de extracción con líquidos presurizados (ASE, Accelerated Solvent Extraction) permite hacer la extracción de los contaminantes con disolventes convencionales a elevada presión y temperatura, por lo tanto, se aumenta mucho la solubilidad del analito, incluso por encima del punto de ebullición del disolvente (Li et al., 2003).

De acuerdo con estos resultados, otros autores también encontraron una mayor extractabilidad de distintos contaminantes en suelos utilizando el método ASE en comparación con la extracción en ultrasonidos. Concha-Graña (2004) obtuvo porcentajes de extracción con ASE generalmente superiores que en ultrasonidos para distintos pesticidas organoclorados. Entre ellos, para el isómero β -HCH la recuperación con ultrasonidos era del orden del 75% de la recuperación con ASE. Li et al. (2003) encontraron que la técnica ASE permitía recuperaciones de hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs) y fenoles en suelos superiores al ultrasonidos. La diferencia era especialmente marcada para fenol y cresol, compuestos para los que, con ultrasonidos, se extraía menos del 50% de la cantidad extraída con ASE.

Fracción biodisponible de HCH

En la Fig. 3 se muestra la cantidad acumulada de los cuatro isómeros de HCH extraídos con agua usando XAD-2 como secuestrante (HCH_{XAD}) y con agua subcrítica usando ASE (HCH_{ASEb}). En los dos métodos el isómero mayoritario en el extracto acuoso era el alfa, seguido de beta; en mucha menor concentración aparecían γ - y δ -HCH. El porcentaje de cada uno de los isómeros respecto a HCH era prácticamente el mismo

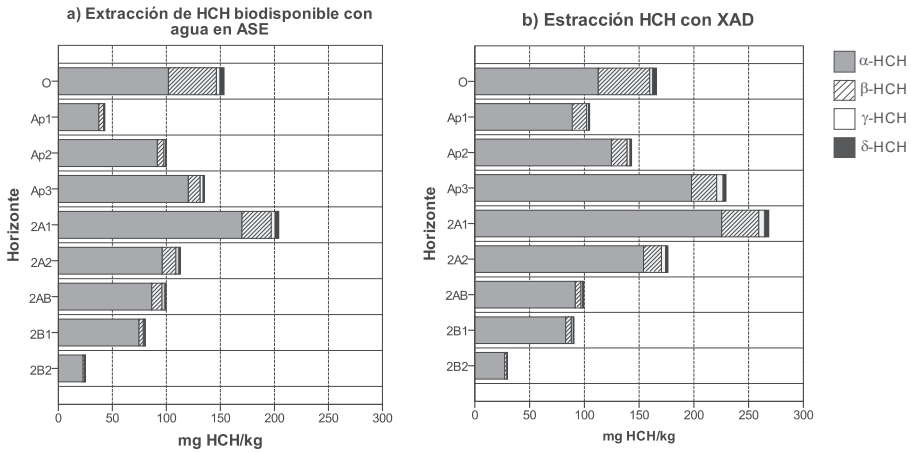


FIGURA 3. Concentración de isómeros de HCH obtenida tras la extracción con a) agua en ASE y b) XAD-2.

en los dos métodos y del mismo orden que en el residuo sólido.

La cantidad de HCH extraída con XAD-2 (HCH_{XAD}) era superior a la obtenida con ultrasonidos (HCH_{US}) y muy cercana a la obtenida con disolventes en ASE (HCH_{ASEt}), indicando que una proporción muy importante del HCH del suelo era potencialmente biodisponible. El porcentaje de HCH biodisponible (HCH_{XAD}/HCH_{ASEt}) oscilaba entre el 51% y el 117%, obteniéndose entre ambos parámetros una elevada correlación (Fig. 4).

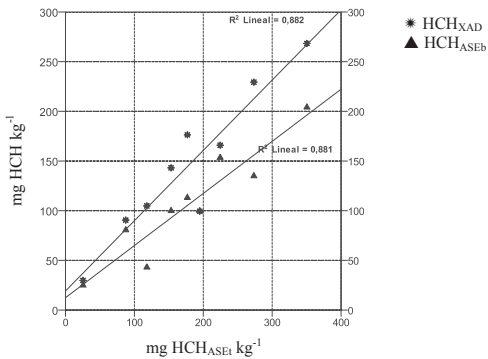


FIGURA 4: Relación entre la cantidad total de isómeros de hexaclorociclohexano extraída con disolventes orgánicos y utilizando un equipo

ASE^o 200 (HCH_{ASEt}) y la fracción biodisponible estimada con extracción acuosa usando una resina XAD-2 y el equipo ASE^o 200 (HCH_{XAD} y HCH_{ASEb} , respectivamente)

La cantidad de HCH biodisponible estimada a partir de agua subcrítica (HCH_{ASEb}) era ligeramente menor que HCH_{XAD} pero había una correlación significativa entre los dos métodos. La correlación era especialmente elevada para los isómeros alfa y beta ($r= 0,92$ y $0,94$, respectivamente) y menor para gamma y delta ($r=0,77$ y $0,85$, respectivamente, Fig. 5). De todas formas, también a partir de este método se podría predecir una elevada biodisponibilidad del contaminante en el suelo objeto de estudio, ya que entre el 36 y 98% del HCH_{ASEt} era extraído con agua subcrítica. Al igual que con el método XAD-2, HCH_{ASEb} presentaba una elevada correlación con HCH_{ASEt} (Fig. 4).

En general en los estudios de extracción con fases acuosas se encuentra una buena relación entre la extractabilidad y la biodegradabilidad (Reid et al., 2000). Existen diversos estudios que reflejan que el reparto de compuestos entre suelo y disolución acuosa refleja la cantidad de compuesto que

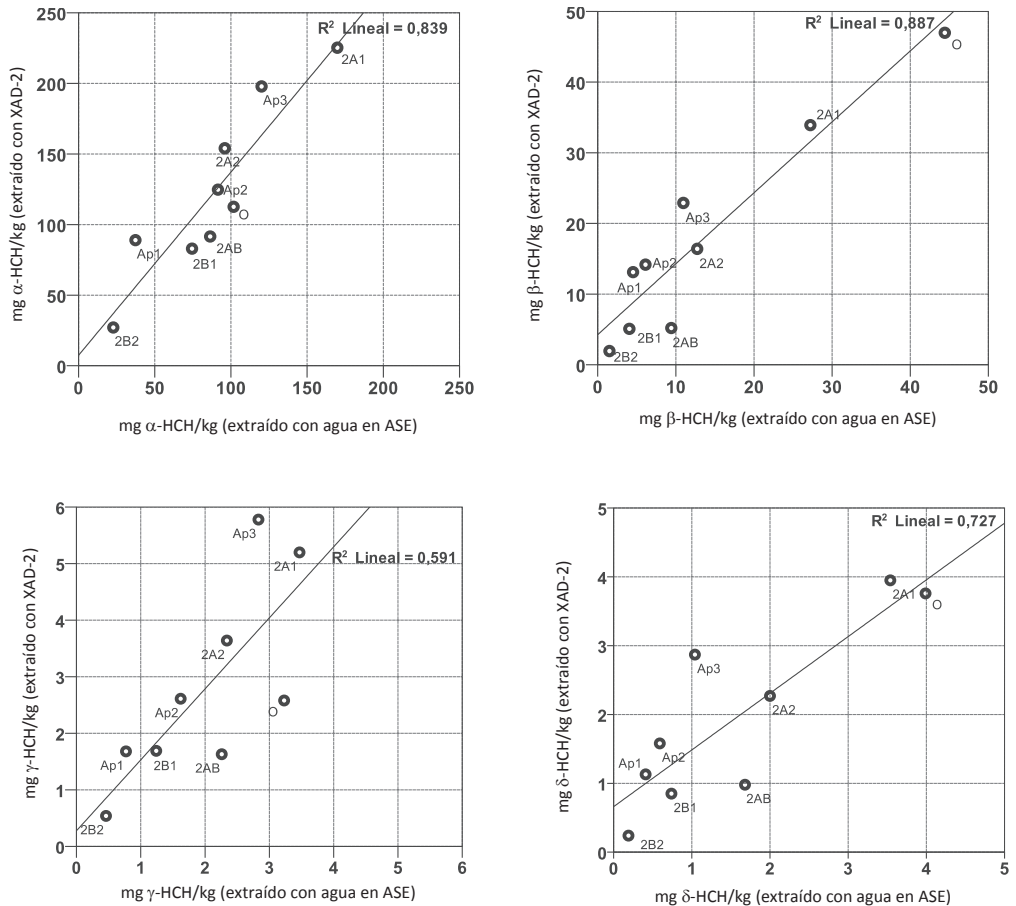


FIGURA 5: Relación entre los resultados de biodisponibilidad obtenidos con ASE y con la resina XAD-2

es disponible a microorganismos.

Los métodos de extracción usados para determinar la fracción “biodisponible” en este estudio no están limitados por la solubilidad en agua del HCH y son una buena alternativa a los métodos convencionales de extracción con agitación suelo-agua. Estos últimos no son adecuados debido a la baja solubilidad de los contaminantes orgánicos; la agitación simple con agua no puede transferir todo el compuesto intercambiable (Reid et al., 2000), es decir, la disolución del compuesto está limitada por su baja solubilidad y por tanto se

subestima su biodisponibilidad. La extracción simple con agua puede ser el reflejo de la composición de la disolución del suelo y, por tanto, estimar la “biodisponibilidad actual”, mientras que los métodos en los que se usa ASE y XAD-2 reflejan la cantidad acumulada que se puede transferir a la disolución del suelo, y por tanto, estimarían la fracción “potencialmente biodisponible”.

CONCLUSIONES

El estudio del perfil C4 abierto en una parcela contaminada con residuos

de fabricación de lindano en O Porriño (Pontevedra) mostraba una distribución heterogénea del contaminante en profundidad, siendo máxima en la superficie del horizonte A cubierto por aportes antropogénicos. A pesar de la baja solubilidad acuosa del residuo, ésta es suficiente como para que se haya producido una contaminación de los horizontes profundos del suelo. El enriquecimiento profundo se produjo fundamentalmente a costa del isómero a-HCH, siendo muy baja la proporción de b-HCH, isómero que quedaría preferencialmente retenido en los horizontes superficiales con materia orgánica.

El método de extracción con disolventes orgánicos asistida por ultrasonidos resultó ser claramente insuficiente para estimar el contenido total de isómeros de HCH en los suelos de este estudio, con un elevado nivel de contaminación. La eficiencia de extracción descendía linealmente con el aumento de la concentración de HCH en el suelo. Para conseguir un aumento significativo de la eficiencia de extracción sería necesario hacer aumento importante en la relación suelo:disolvente. Una reducción del tamaño de muestra aumentaría los problemas de repetitibilidad asociados a la heterogeneidad característica de las muestras de suelos contaminados, mientras que un aumento del volumen de extractante aumentaría los problemas propios del uso disolventes orgánicos. La extracción con disolventes a presión mediante un equipo ASE 200 parece más adecuada para este tipo de muestras, ya que se consigue una elevada eficiencia de extracción y un importante ahorro de disolvente.

La extracción con agua utilizando la técnica de extracción con líquidos presurizados (ASE) es comparable a la conseguida con el uso de la resina XAD-2 y podría ser un buen estimador de la fracción potencialmente biodisponible de HCH en el suelo. Esta técnica podría ser aplicable, por tanto, a la

evaluación de riesgos asociados con HCH en lugares contaminados y a la evaluación de su potencial de biorremediación. Estos dos métodos señalan que un porcentaje muy elevado del contaminante en los suelos de este estudio es potencialmente desorbible, siendo relativamente pequeña la fracción resistente a la desorción, a pesar del elevado contenido de materia orgánica de los horizontes superficiales. Esto sugiere que la carga contaminante está muy por encima de la capacidad de fijación del suelo, y que éste, por tanto, estaría actuando como foco de contaminación. Por otro lado, estos resultados también apuntan a que una elevada proporción del contaminante es biodisponible para microorganismos, lo que favorecería el proceso de biodegradación.

REFERENCIAS

- Abhilash, P.C., Jamil, S., Singh, V., Singh, A., Singh, N., Srivastava, S.C. (2008): Occurrence and distribution of hexachlorocyclohexane isomers in vegetation samples from a contaminated area. *Chemosphere*. 72, 79-86.
- Alexander, M. (2000): Aging, bioavailability, and overestimation of risk from environmental pollutants. *Environ. Sci. Technol.* 34, 4259-4265.
- Barriada-Pereira, M., Concha-Grana, E., Gonzalez-Castro, M.J., Muniategui-Lorenzo, S., Lopez-Mahia, P., Prada-Rodriguez, D., Fernandez-Fernandez, E. (2003): Microwave-assisted extraction versus soxhlet extraction in the analysis of 21 organochlorine pesticides in plants. *J. Chromatogr. A*. 1008, 115-122.
- Calvelo Pereira, R., Camps-Arbestain, M., Rodriguez Garrido, B., Macias, F., Monterroso, C. (2006): Behaviour of a-, b-, g-, and d-hexachlorocyclohexane in the soil-plant system of a contaminated site. *Environ. Pollut.* 144,

- 210-217.
- Concha-Graña, E. (2004): Desarrollo de métodos de análisis de pesticidas organoclorados en matrices ambientales. Tesis Doctoral. Departamento de Química Analítica, Universidade da Coruña, A Coruña.
- Gan, J., Papiernik, S.K., Koskinen, W.C., Yates, S.R. (1999): Evaluation of accelerated solvent extraction (ASE) for analysis of pesticide residues in soil. *Environ. Sci. Technol.* 33, 3249-3253.
- Hallgren, P., Westbom, R., Nilsson, T., Sporing, S., Björklund, E. (2006): Measuring bioavailability of polychlorinated biphenyls in soil to earthworms using selective supercritical fluid extraction. *Chemosphere.* 63, 532-1538.
- IUSS Working Group WRB. (2007). World Reference Base for Soil Resources 2006, first update 2007. World Soil Resources Reports No. 103. FAO, Rome.
- Kanazawa, J. (1989): Relationship between the soil sorption constants for pesticides and their physicochemical properties. *Environ. Toxicol. Chem.* 8, 477-484.
- Lei, L., Suidan, M.T., Khodadoust, A.P., Tabak, H.H. (2004): Assessing the Bioavailability of PAHs in Field-Contaminated Sediment Using XAD-2 Assisted Desorption. *Environ. Sci. Technol.* 38, 1786-1793.
- Li, K., Landriault, M., Fingas, M., Llompart, M. (2003): Accelerated solvent extraction (ASE) of environmental organic compounds in soils using a modified supercritical fluid extractor. *J. Hazard. Mater.* 102, 93-104.
- Li, Y.F., Bidleman, T.F., Barrie, L.A., McConnell, L.L. (1998): Global hexachlorocyclohexane use trends and their impact on the arctic atmospheric environment. *Geophys. Res. Lett.* 25, 39-41.
- Lu, X., Reible, D.D., Fleeger, J.W. (2006): Bioavailability of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Field-Contaminated Anacostia River (Washington, DC) Sediment. *Environ. Toxicol. Chem.* 25, 2869-2874.
- Miller, D.J., Hawthorne, S.B., Gizir, A.M., Clifford, A.A. (1998): Solubility of polycyclic aromatic hydrocarbons in subcritical water from 298 K to 498 K. *J. Chem. Eng.* 43, 1043-1047.
- Northcott, G.L., Jones, K.C. (2001): Partitioning, extractability, and formation of nonextractable PAH residues in soil. 2. effects on compound dissolution behavior. *Environ. Sci. Technol.* 35, 1111-1117.
- OMS (Organización Mundial de la Salud). (1991): Environmental Program on chemical Safety. Environmental Health Criteria 124, Lindane. Geneva, Switzerland.
- Peech, M., Alexander, L.T., Dean, L.A., Reed, J.F. (1947): Methods of soil analysis for soil fertility investigations. *U.S.D.A. Cir. 757*. U.S. Gov. Print. Office, Washington, DC.
- Pignatello, J.J., Xing, B. (1996): Mechanisms of slow sorption of organic chemicals to natural particles. *Environ. Sci. Technol.* 30, 1-11.
- Reid, B.J., Jones, K.C., Semple, K.T. (2000). Bioavailability of persistent organic pollutants in soils and sediments-a perspective on mechanisms, consequences and assessment. *Environ. Pollut.* 108, 103-112.
- Semple, K.T., Morriss, A.W.J., Paton, G.I. (2003): Bioavailability of hydrophobic organic contaminants in soils: Fundamental concepts and techniques for analysis. *Eur. J. Soil Sci.* 54, 809-818.
- Simpson, S.L., Burston, V.L., Jolley, D.F.,

- Chau, K. (2006): Application of surrogate methods for assessing the bioavailability of PAHs in sediments to a sediment ingesting bivalve. *Chemosphere*. 65, 2401-2410.
- Smith, R.M. (2006): Superheated water: the ultimate green solvent for separation science. *Anal. Bioanal. Chem.* 385, 419-421.
- Tao, S., Guo, L.Q., Wang, X.J., Liu, W.X., Ju, T.Z., Dawson, R., Cao, J., Xu, F.L., Li, B.G. (2004): Use of sequential ASE extraction to evaluate the bioavailability of DDT and its metabolites to wheat roots in soils with various organic carbon contents. *Sci. Total Environ.* 320, 1-9.
- U.S. EPA, (2000): Pressurized Fluid Extraction (PFE), Test Methods for Evaluating Solid Waste, Method 3545A, Revision 1, US Environmental Protection Agency, Washington, D.C.
- U.S. EPA, (2000): Ultrasonic Extraction, Test Methods for Evaluating Solid Waste, Method 3550C, Revision 3, US Environmental Protection Agency, Washington, D.C.
- Walker, K., Vallero, D.A., Lewis, R.G. (1999): Factors influencing the distribution of lindane and other hexachlorocyclohexanes in the environment. *Environ. Sci. Technol.* 33, 4373-4378.
- Willett, K.L., Ulrich, E.M., Hites, R.A. (1998): Differential toxicity and environmental fates of hexachlorocyclohexane isomers. *Environ. Sci. Technol.* 32, 2197-2207.
- Yang, Y., Hawthorne, S.B., Miller, D.J. (1997): Class-selective extraction of polar, moderately polar, and nonpolar organics from hydrocarbon wastes using subcritical water. *Environ. Sci. Technol.* 31, 430-437.