

Metodologías de extracción de metales pesados presentes en matrices medioambientales marinas (*Posidonia oceanica*, sedimentos, anélidos poliquetos). Propuesta de una nueva metodología no contaminante

A. Hernández Martínez y C. Padrón Sanz

Instituto de Investigación en Medioambiente y Ciencia Marina.
Universidad Católica de Valencia "San Vicente Mártir", Valencia, España.
anamaria.hernandez@ucv.es; carolina.padrón@ucv.es



Instituto de
Investigación en
Medio Ambiente y
Ciencia Marina.



Universidad
Católica de
Valencia

HERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, A. y PADRÓN-SANZ, C., 2009. Metodologías de extracción de metales pesados presentes en matrices medioambientales marinas (*Posidonia oceanica*, sedimentos, anélidos poliquetos). Propuesta de una nueva metodología no contaminante. *Nereis. Estudios y propuestas científico técnicas*, 2, 65-72.

ABSTRACT

The present work is an overview about the methods traditionally used (acid digestion and microwave assisted extraction, MAE) for the extraction of heavy metals from different marine samples of environmental interest: *Posidonia oceanica*, marine sediments and polychaete annelids. The study reveals the suitability of using these kind of samples as indicators of environmental pollution and, in addition, the disadvantages from the analytical and environmental point of view, of the above mentioned methods. On the other hand, a new non pollutant method based on the use of biodegradable surfactants as extractants is proposed for the extraction of heavy metals from these matrices.

KEYWORDS: Heavy metals, extraction methods, surfactants, *Posidonia oceanica*, marine sediments, polychaete.

RESUMEN

El presente trabajo es un estudio bibliográfico sobre las metodologías empleadas tradicionalmente en la extracción de metales pesados de algunas muestras de interés medioambiental en el ámbito marino como: *Posidonia oceanica*, sedimentos marinos y anélidos poliquetos. El estudio revela la idoneidad de emplear dichas matrices como indicadores de contaminación ambiental y, a su vez, las desventajas desde el punto de vista analítico y ambiental, de dichas metodologías. Por ello, se plantea además la propuesta de una nueva metodología no contaminante basada en el uso de surfactantes biodegradables como extractantes de metales pesados, consiguiendo así evitar contaminación ambiental y riesgos para el analista.

PALABRAS CLAVE: metales pesados, métodos de extracción, surfactants, *Posidonia oceanica*, poliquetos.

INTRODUCCIÓN

Los metales pesados son elementos químicos metálicos de alta densidad, presentes en una gran variedad de productos y residuos de la industria metalúrgica, residuos de pinturas y colorantes, subproductos de la corrosión de tuberías y depósitos metálicos, etc. Estos elementos pueden llegar al medio natural, donde presentan una elevada toxicidad (Nuremberg, 1984; Forstner, 1990; Harte et al., 1991; Schuurmann et al., 1998; MacFarlane et al., 2000), gran persistencia y rápida acumulación por los organismos vivos (Rosas, 2001). Las características que controlan la migración de estas sustancias son su hidrofobicidad y persistencia en el medio, características no deseables desde el punto de vista ambiental. Precisamente, debido a la elevada hidrofobicidad que presentan estos elementos, una vez llegan al medio marino tienden a acumularse en interfaces como el sedimento o a quedar adsorbidos o incorporados en los organismos marinos (Loska et al., 2003; Lafabrie et al., 2007).

El estudio de este tipo de matrices permite conocer el grado de contaminación en el medio.

En este sentido, la fanerógama *Posidonia oceanica*, que ha sido utilizada como bioindicador de metales durante décadas (Constantini et al., 1991; Campanella et al., 2001; Lafabrie et al., 2007, 2009), es conocida por su mayor capacidad para la acumulación de metales como el Cd, Co, Hg, Ni, Pb en las hojas, mientras que metales como el Cr, se acumulan preferentemente en las escamas (Lafabrie et al., 2008b).

Respecto a los sedimentos, éstos representan uno de los sumideros de los metales descargados al ambiente (Ghrefat et al., 2006; Gibbs, 1977; Luoma and Bryan, 1981; Bettinetti et al., 2003; Hollert et al., 2003). Cuando alcanzan el medio marino, los metales pesados se acumulan en la interfase sedimento-agua a través de complejos mecanismos físico-químicos de adsorción, que dependen de la naturaleza de la matriz sedimentaria y de las propiedades de los compuestos adsorbidos (Maher et al., 1992; Ankley et al., 1992; Leivouri, 1998).



Los anélidos poliquetos, de otra parte, presentan la capacidad de incorporar metales pesados a través de su alimentación, ya sea suspensiva o detritívora. Además los metales pueden quedar adsorbidos a sus estructuras y/o ser bioacumulados. Es por ello que estos organismos son muy útiles como indicadores biológicos de contaminación por metales pesados (Langston et al., 1986; Athalye et al., 1991; Frangipane et al., 2005; Bertrán et al., 2001).

Por tanto, la utilización de este tipo de matrices es de gran utilidad a la hora de caracterizar el estado ambiental del medio marino y resultan especialmente reveladores de las condiciones ambientales del entorno.

Por otra parte, es un hecho destacable que una de las metodologías más utilizadas para la extracción de estos compuestos, emplea extractantes fuertemente tóxicos y corrosivos, a menudo ácidos fuertes, que han de ser aplicados durante largos periodos de tiempo (12 h) y a temperaturas muy elevadas (180° C) (Bettiol et al., 2008) para lograr la extracción completa de los metales, proceso conocido tradicionalmente como "digestión ácida" (Ghrefat et al., 2006; Bettiol et al., 2008). Una de las mejoras, sobre esta metodología, es la aplicación de la energía microondas, proceso conocido como "Extracción Asistida por Microondas" (MAE). Esta técnica permite, a diferencia de las técnicas de extracción convencionales, un calentamiento de toda la muestra de forma simultánea sin que lo haga el recipiente que la contiene, por lo que la disolución ácida alcanza su punto de ebullición de forma más rápida permitiendo tiempos de extracción más cortos. Además, con esta metodología se puede realizar la extracción simultánea de varias muestras en una sola etapa, así se reduce el tiempo total de extracción (Pazos-Capeáns et al., 2005), se requiere de una menor cantidad de muestra y de extractante (Zhang et al., 2000; Bettiol et al., 2008), y se garantiza una mayor reproducibilidad, así como niveles de contaminación más bajos, lo que implica una atmósfera de trabajo más limpia (Padrón-Sanz, 2005). No obstante, también en este caso se emplean mezclas de ácidos fuertes para lograr la extracción. Por ello, la utilización de ácidos fuertes (tóxicos y corrosivos) continúa suponiendo un riesgo para el analista, de modo que una alternativa más segura en este sentido y más respetuosa con el medioambiente consistiría en la sustitución de estos extractantes por surfactantes (agregados micelares) biodegradables. Esto permite adaptar la técnica de extracción asistida por microondas a una nueva forma de trabajo en la que se evita completamente la utilización de extractantes tóxicos y corrosivos, técnica que puede denominarse como "Extracción Micelar Asistida por Microondas" (MAME) (Padrón et al., 2005) y que cada vez se emplea más en Química Analítica gracias al impulso de la "química verde".

Los surfactantes son moléculas anfifílicas, con cola apolar y una cabeza polar, que puede o no tener carga eléctrica. En función de ello existen diferentes tipos de surfactantes:

1. **Catiónicos:** la cabeza polar tiene carga positiva, por lo que tienden a adsorberse sobre sustratos con carga negativa. Sin embargo, no se utilizan junto a surfactantes aniónicos puesto que tienden a formar compuestos insolubles en disoluciones acuosas.
2. **Aniónicos:** la cabeza polar tiene carga negativa, por lo que tienden a adsorberse sobre sustratos con carga positiva. En disolución acuosa se disocian en un anión anfifilo y un catión metálico.
3. **No iónicos:** la cabeza polar está desprovista de carga, por lo que no producen iones en disolución acuosa y son compatibles

con otros surfactantes. Además son menos sensibles a la presencia de electrolitos que en el caso de los anteriores.

En disolución acuosa a altas concentraciones, y cuando alcanzan un determinado valor denominado Concentración Micelar Crítica (CMC), estas moléculas se asocian, bien por afinidad polar o bien mediante enlace iónico, formando unos agregados micelares que tienen la capacidad de atrapar determinadas sustancias.

Es, precisamente, debido a estas propiedades únicas que se han encontrado un gran número de aplicaciones, pues poseen la habilidad de provocar la transferencia de la fase soluto en una extracción líquido-líquido tradicional, y de reaccionar como disolventes específicos de los analitos, lo que los hace ideales como extractantes. Además de ser más manejables y baratos (Sosa et al., 2004; Padrón-Sanz et al., 2005; Halko et al., 2006). El objetivo de este trabajo es, por tanto, realizar una revisión bibliográfica sobre las metodologías de extracción y análisis de metales pesados empleadas en muestras marinas, concretamente: la fanerógama *Posidonia oceanica*, sedimentos y anélidos poliquetos, como paso previo a la realización de una tesis doctoral basada en la utilización de surfactantes biodegradables como alternativa a los extractantes tóxicos convencionalmente utilizados.

Metodología de extracción y análisis que, además de ser más ventajosa desde el punto de vista analítico, es más respetuosa con el medioambiente y más segura para el analista.

APLICACIÓN DE METODOLOGÍAS TRADICIONALES DE EXTRACCIÓN A MATRICES DE ÁMBITO MARINO:

Las metodologías anteriormente descritas también han sido ampliamente utilizadas sobre matrices sólidas de ámbito marino, siendo las de mayor interés medioambiental aquellas que sirven como indicadores de contaminación debido a su elevada capacidad para adsorber o acumular metales pesados (Maserti et al., 1988; Sanchiz et al., 1990; Costantini et al., 1991; Catsiki et al., 1993; Malea et al., 1994; Warnau et al., 1995, 1996; Schlacher-Hoenlinger et al., 1998; Pergent-Martini, 1998; Capiomont et al., 2000; Campanella et al., 2001; Lafabrie et al., 2007, 2008a).

A continuación se presentan varios estudios de extracción y análisis de metales pesados sobre matrices medioambientales marinas (*Posidonia oceanica*, sedimentos marinos y anélidos poliquetos). En todos ellos se emplean las metodologías tradicionales de extracción.

Posidonia oceanica:

Durante las últimas décadas, en el mar Mediterráneo, se ha utilizado la fanerógama marina *Posidonia oceanica* como bioindicador de contaminación por metales (Maserti et al., 1988; Sanchiz et al., 1990; Costantini et al., 1991; Catsiki et al., 1993; Malea et al., 1994; Warnau et al., 1995, 1996; Pergent-Martini, 1998; Schlacher-Hoenlinger et al., 1998).

Más recientemente, como muestra la tabla 1, desde el año 2000, en que la Unión Europea publicó la Directiva Marco del Agua 2000/60/CE, que requiere a los Estados miembros que en 2015 todas sus aguas tengan, al menos, un 'buen estado ecológico y químico', los científicos y gestores trabajan conjuntamente para encontrar buenos indicadores ecológicos de la calidad de los ecosistemas acuáticos.

En este sentido, y en lo que respecta a los ecosistemas costeros, en numerosas ocasiones se ha propuesto a la fanerógama marina *Posidonia oceanica* como indicador del estado ecológico o

Tabla 1. Estudios realizados en la última década sobre metodologías tradicionales de extracción de metales pesados de *Posidonia oceanica*. (Elaboración propia).

Referencia	Metodología	Metales
Sanchiz <i>et al.</i> , 2000.	Digestión ácida (HNO ₃)	Hg, Cd, Pb, Zn
Campanella <i>et al.</i> , 2001.	MAE (HNO ₃)	Cd, Cr, Cu, Pb, Zn
Tranchina <i>et al.</i> , 2005.	MAE (HCl, HNO ₃ , H ₂ O ₂)	Cu, Zn, Cd, Pb
Romero <i>et al.</i> , 2007.	Digestión ácida (HNO ₃ , H ₂ O ₂)	Cu, Pb, Zn
Martínez-Crego <i>et al.</i> , 2008.	Digestión ácida (HNO ₃ , H ₂ O)	Fe, Mn, Zn, Cu, Ni, Pb, As, Cr
Lafabrie <i>et al.</i> , 2007, 2008a, 2008b, 2009.	MAE (HNO ₃ , H ₂ O ₂)	Cd, Co, Cr, Hg, Ni, Pb

calidad de las aguas costeras del mar Mediterráneo (Capiomont *et al.*, 2000; Sanchiz *et al.*, 2000; Campanella Master Oficial *et al.*, 2001; Tranchina *et al.*, 2005; Romero *et al.*, 2007; Montefalcone *et al.*, 2006; Bucalossi *et al.*, 2006; Martínez-Crego *et al.*, 2008; Lafabrie *et al.*, 2007, 2008b, 2009).

Así por ejemplo, en el año 2000 Sanchiz *et al.* empleó la digestión ácida con ácido nítrico para extraer metales de esta fanerógama marina, a lo largo de la costa del Levante español, desde Tarragona hasta Murcia, concluyendo que constituye un buen bioindicador de la contaminación por Hg, Cd, Pb y Zn.

Un año más tarde, en 2001, con el mismo objetivo, Campanella *et al.* utilizaron también ácido nítrico, pero en este caso con la técnica MAE. El estudio, realizado en una zona considerada virtualmente no contaminada de Sicilia, Italia (Favignana Island); sirvió para verificar el carácter cosmopolita de *Posidonia oceanica* como bioindicador de contaminación por Cd, Cr, Cu, Pb y Zn.

Posteriormente, en 2005, Tranchina *et al.* entre otros, utilizaron la técnica MAE con mezclas de ácido clorhídrico, ácido nítrico y peróxido de hidrógeno, para extraer Cu, Zn, Cd y Pb de muestras de *Posidonia oceanica* procedentes del sur-este de Sicilia, con la finalidad de conocer el grado de contaminación por metales y la calidad de esa zona costera, confirmando la validez de esta especie como indicador de contaminación de las aguas por metales pesados.

En 2007 Romero *et al.*, en Barcelona, España, diseñaron un índice ecológico fundamentado en la Directiva Marco del Agua y basado en la estructura y función de las praderas de *Posidonia oceanica* como ecosistema, para establecer el estado ecológico de los ecosistemas costeros. Entre los parámetros utilizados para el cálculo del índice está la contaminación por metales, concretamente Cu, Pb y Zn, los cuales fueron extraídos de la fanerógama mediante digestión ácida con ácido nítrico y peróxido de hidrógeno. Este mismo método fue utilizado también por Martínez-Crego *et al.* en 2008 en Girona (España) para extraer, mediante digestión ácida con ácido nítrico; Fe, Mn, Zn, Cu, Ni, Pb, As y Cr como parámetros indicadores del estado ecológico de las praderas de *Posidonia oceanica* y, por tanto, del ecosistema costero.

Al mismo tiempo, durante los años comprendidos entre 2007 y 2009, Lafabrie *et al.*, quienes desarrollaron sus trabajos en las costas de Córcega y Sicilia utilizando la técnica MAE y una mezcla de ácido nítrico y peróxido de hidrógeno, reafirmaron el

uso de *Posidonia oceanica* como bioindicador de contaminación por Cd, Co, Cr, Hg, Ni y Pb, así como para evaluar su dispersión espacial.

Todos estos estudios ponen de manifiesto dos aspectos: en primer lugar, que la especie *Posidonia oceanica* es idónea para la extracción de metales pesados, así como el empleo de ésta para evaluar el estado ecológico de las aguas costeras, lo cual viene avalado por la Directiva Marco del Agua, de la Unión Europea; y en segundo lugar que las metodologías de extracción de metales más empleadas para la realización de los estudios en *Posidonia oceanica* fueron la digestión ácida y la extracción asistida por microondas (MAE), haciendo uso de mezclas de ácidos fuertemente tóxicos y corrosivos.

Sedimentos:

Los sedimentos representan uno de los sumideros finales de los metales pesados que son descargados en el ambiente (Gibbs, 1977; Luoma and Bryan, 1981; Bettinetti *et al.*, 2003; Hollert *et al.*, 2003; Ghrefat *et al.*, 2006). Estos metales se acumulan en los sedimentos a través de complejos mecanismos físico-químicos de adsorción, que dependen de la naturaleza de la matriz sedimentaria y de las propiedades de los compuestos adsorbidos (Maher *et al.*, 1992; Ankley *et al.*, 1992; Leivouri, 1998).

Varios procesos explican la asociación de metales pesados a fases sólidas, como la adsorción directa a las arcillas, que constituyen la fracción inorgánica fina del sedimento; la adsorción de hidrato férrico y óxido de manganeso, que también pueden asociarse a partículas inorgánicas; y la precipitación directa (Gibbs, 1973). Así pues, el proceso de adsorción está influenciado por diferentes parámetros físico-químicos y químicos, como el pH, el potencial de oxidación-reducción, el oxígeno disuelto, el contenido en carbono orgánico e inorgánico, y la presencia de diferentes contaminantes en el agua, ya sea en forma disuelta o particulada (Di Toro *et al.*, 1991; Calmano *et al.*, 1993; Wen and Allen, 1999).

Debido a estos fenómenos los sedimentos constituyen, también en el medio marino, un sumidero importante de metales pesados. Es por ello que tradicionalmente se han utilizado como matriz para la extracción de metales pesados, permitiendo conocer el grado de contaminación debido a la presencia de estos elementos en el medio.

Los métodos más comúnmente utilizados para extraer metales de sedimentos de origen marino son la digestión ácida y la extracción asistida por microondas (MAE). Así lo demuestran numerosos estudios realizados desde hace décadas, como el realizado por Millward *et al.* en 1999 en el estuario Chupa, en el mar Blanco (Rusia). Estos autores extrajeron Cd, Cu, Fe, Mn, Pb y Zn sometiendo las muestras a digestión ácida con ácido nítrico durante 24h, para conocer el grado de contaminación y la distribución de los contaminantes en los sedimentos de dicho estuario, confirmando la excelencia de la matriz como reservorio de metales pesados.

En el año 2000, Sanchiz *et al.*, tal como muestra la Tabla 2, extrajeron Hg, Cd, Pb y Zn de muestras de sedimentos procedentes de diferentes lugares del litoral mediterráneo en España, mediante digestión con ácido nítrico. El objetivo era correlacionar los resultados con los obtenidos para el análisis de los mismos metales en organismos. Lograron, así, verificar el uso de dichos organismos como bioindicadores de contaminación por metales.

En este sentido Bertrán *et al.*, en 2001, extrajeron Cu, Mn y Pb de sedimentos de la desembocadura del río Biobío, en Chile, mediante digestión ácida con ácido nítrico. En este caso el objetivo era establecer el nivel de contaminación aportado al



Tabla 2. Estudios realizados en la última década sobre metodologías tradicionales de extracción de metales pesados de sedimentos marinos (Elaboración propia).

Referencia	Metodología	Metales
Millward <i>et al.</i> , 1999.	Digestión ácida (HNO ₃)	Cd, Cu, Fe, Mn, Pb, Zn
Sanchiz <i>et al.</i> , 2000.	Digestión ácida (HNO ₃)	Hg, Cd, Pb, Zn
Bertrán <i>et al.</i> , 2001.	Digestión ácida (HNO ₃)	Cu, Mn, Pb
McCready <i>et al.</i> , 2003.	MAE (HCl, EDTA, HClO ₄ , HNO ₃)	Zn, Pb, Cu, Cd
Bettiol <i>et al.</i> , 2008.	MAE (HNO ₃ , HCl, agua regia/HF)	Contenido total de metales
Spanos <i>et al.</i> , 2008.	Digestión ácida, MAE (HNO ₃ /HF, HNO ₃ /HCl/HF, HNO ₃ /HClO ₄ /HF)	Ag, Al, As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Se, Sn, Zn

medio marino por dicho río. Los resultados revelaron la idoneidad de los sedimentos como sumidero de los metales pesados aportados por el río.

En 2003, McCready *et al.*, en Australia, extrajeron Zn, Pb, Cu y Cd de sesenta muestras de sedimentos procedentes del puerto de Sydney, mediante extracción con una mezcla de ácido clorhídrico, EDTA y ácido perclórico/ácido nítrico. La experiencia permitió conocer, a través del análisis de las muestras de sedimentos, el nivel de contaminación del puerto de la capital australiana, así como la calidad de éstos en el mismo.

Por otro lado, ya en la actualidad (véase tabla 2) y atendiendo a los estudios realizados más recientemente, en 2008, Bettiol *et al.* extrajeron el contenido total de metales de muestras procedentes de un canal de Venecia, en Italia. Para ello utilizaron la digestión ácida con una mezcla de agua regia y ácido fluorhídrico; y la técnica MAE con tres ácidos diferentes como extractantes: ácido nítrico, ácido clorhídrico y una mezcla de agua regia y ácido fluorhídrico; con el objetivo de comparar la eficiencia de extracción de cada uno de ellos y establecer el grado de contaminación en el canal. En todos los casos se confirmó la idoneidad de los sedimentos como excelente matriz para el análisis de contaminación por metales.

También en 2008, Spanos *et al.* extrajeron Ag, Al, As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Se, Sn y Zn, de muestras de sedimento del mar Negro, en Bulgaria.

Para ello utilizaron mezclas de ácido nítrico y fluorhídrico; ácido nítrico, clorhídrico y fluorhídrico; o ácido nítrico, perclórico y fluorhídrico; en digestión ácida y MAE; logrando establecer el nivel de contaminación en dicha área costera.

Todos los estudios revelan, por una parte, la idoneidad de los sedimentos marinos como matriz para la extracción de metales pesados y el establecimiento de los niveles de contaminación metálica de una determinada área costera a partir del análisis químico de éstos; y por otra, que incluso en la actualidad las metodologías empleadas para ello hacen uso de ácidos fuertes, con los inconvenientes y desventajas que ello implica.

Anélidos poliquetos:

Los metales pesados, tal como se ha descrito con anterioridad, pueden ser incorporados por algunos organismos (como los anélidos poliquetos detritívoros o suspensívoros), o quedar

adsorbidos a ellos, siendo útiles en ambos casos como indicadores biológicos de contaminación por metales.

En este sentido y debido a su elevada capacidad para bioacumular metales pesados, los poliquetos proporcionan una estimación directa y un registro histórico de la concentración de metales pesados en su ambiente inmediato (Hellawell, 1989; Abel, 1989; Wilson, 1994; Basualto *et al.*, 1997). Por estos motivos, los anélidos poliquetos presentan una gran utilidad analítica como bioindicadores de contaminación por metales pesados a niveles traza (Bertrán *et al.*, 2001) (véase tabla 3).

Las especies utilizadas para ello son diversas. Así, ya en 1986, Langston utilizó la especie *Hediste diversicolor* como bioindicador de contaminación por metales pesados para el estuario de Mersey, en Inglaterra, confirmando la excelencia de la especie como tal. Unos años más tarde, en 1991, fueron

Athalye y Gokhale quienes utilizaron y confirmaron que la especie *Lycastis auanaryensis* es un buen bioindicador de contaminación por Zn, Cu, Pb y Cd en el estero de Thane, en la India.

Más recientemente, ya en 2001, Bertrán *et al.*, en la VIII Región del Biobío (Chile) extrajeron Cu, Mn y Pb de muestras de poliqueto *Perinereis gualpensis* Jenses mediante digestión con ácido nítrico. Con los resultados que obtuvieron demostraron la elevada capacidad de esta especie para bioacumular metales, evidenciando la elevada utilidad analítica de los poliquetos como bioindicadores para detectar concentraciones de estos elementos a nivel traza, principalmente Cu y Pb. Unos años más tarde, en 2005, Frangipane *et al.*, en Venecia (Italia) extrajeron Cu, Cd, Cr, Mn y Pb de muestras del poliqueto *Hediste diversicolor* mediante digestión con ácido nítrico, estableciendo una buena correlación entre la concentración de metales en el organismo y ésta en el ambiente.

También en este caso los estudios realizados sobre anélidos poliquetos evidencian la elevada utilidad de estos organismos como indicadores biológicos de contaminación por metales pesados, debido a su alta capacidad para bioacumularlos, siendo

Tabla 3. Estudios sobre metodologías tradicionales de extracción de metales pesados de anélidos poliquetos (Elaboración propia).

Referencia	Metodología	Metales
Langston, 1986.	Digestión ácida	Contenido total
Athalye y Gokhale, 1991.	Digestión ácida	Zn, Cu, Pb, Cd
Bertrán <i>et al.</i> , 2001.	Digestión ácida (HNO ₃)	Cu, Mn, Pb
Frangipane <i>et al.</i> , 2005.	Digestión ácida (HNO ₃)	Cu, Cd, Cr, Mn, Pb

por tanto una excelente matriz para el análisis de este tipo de contaminantes en el medio marino.

No obstante, al igual que en los casos anteriores, todos los estudios realizados sobre estas matrices han sido llevadas a cabo empleando metodologías tradicionales que hacen uso de ácidos fuertemente tóxicos y corrosivos. Por lo que se requiere el desarrollo de nuevas metodologías de extracción más respetuosas con el medioambiente e inocuas para el analista.

Tabla 4. Estudios sobre metodologías alternativas de extracción de elementos y compuestos de matrices de diversa naturaleza, empleando surfactantes como extractantes (Elaboración propia).

Referencia	Surfactantes	Matrices	Analitos
Chang <i>et al.</i> , 2005.	LED3A, SDS, Tritón X100	Suelos	Cd, Cu
Padrón-Sanz <i>et al.</i> , 2005..	POLE, Genapol X080	Suelos	Dimetato, metidatión, metil paratión, malatión, etoprofos,etil paratión, diazinon, clorpirifos
Doğuan <i>et al.</i> , 2006.	SDS/EDTA, SDS/ác. málico, SDS/ác. maleico	Soluciones acuosas	Zn, Mn, Cu
Arvand <i>et al.</i> , 2007.	PAN, Tritón X100	Soluciones acuosas	Zn, Cu
Santana <i>et al.</i> , 2008.	SDoS, SDS, SOS, SDBSA, aerosol OT, Tritón X 114, Tritón X100, Genapol X080, POLE, Polidocanol, C ₁₂ E ₆ ,	Agua, sedimentos, muestras biológicas	PCBs, PCDFs, PCDDs, DEHA, ATBC, fenoles, PAHs
Cueva-Mestanza <i>et al.</i> , 2008a,b.	HTAB POLE	Sedimentos marinos, moluscos	Fármacos (fenazon, arbamazepina, ác clofibrico, quetoprofeno, naproxeno, bezafibrato, ibuprofeno, propranolol)
Singh <i>et al.</i> , 2009	SDS, Tritón X100	Sedimentos estuarinos	Al, Fe, Cd, Cu, Mn, Ni, Pb, Sn, Zn

METODOLOGÍA ALTERNATIVA DE EXTRACCIÓN DE CONTAMINANTES BASADA EN EL USO DE SURFACTANTES (MAME):

Recientemente (véase tabla 4) se han publicado algunos trabajos que demuestran que la combinación de la técnica de Extracción Asistida por Microondas con el uso de surfactantes biodegradables como extractantes, da lugar a una metodología altamente eficiente y versátil (MAME) para la extracción de diferentes elementos y compuestos contaminantes, tanto orgánicos como inorgánicos, presentes en matrices sólidas muy diversas. Así por ejemplo, la metodología MAME ha sido empleada para la extracción de compuestos orgánicos presentes en sedimentos marinos y organismos (Santana *et al.*, 2008; Padrón-Sanz *et al.*, 2005; Cueva-Mestanza *et al.*, 2008a,b); fármacos presentes en sedimentos (Cueva-Mestanza *et al.*, 2008a) y organismos marinos (Cueva-Mestanza *et al.*, 2008b) etc. Además esta metodología presenta una serie de ventajas frente a las tradicionales: bajo coste, fácil manejo y nulos efectos tóxicos debido a su biodegradabilidad (Padrón, 2005).

También se ha probado en numerosas ocasiones la efectividad de los surfactantes como extractantes de metales pesados presentes en diferentes tipos de matrices como: agua de mar, sedimentos, soluciones acuosas, suelos, etc. (Safavi *et al.*, 2001; Singh *et al.*, 2009; Chang *et al.*, 2005; Doğutan Yenidünya, 2006 ; Arvand *et al.*, 2007 ; Kornecki *et al.*, 1998; Kulichenko *et al.*, 2003; Shin *et al.*, 2005 ; Goryacheva *et al.*, 2005 ; Amin, 2002 ; Bulavchenko *et al.*, 2003; Eskandari, 2006; Sal'nikov, 2005).

Sin embargo, no existe ningún estudio hasta el momento que ponga de manifiesto el rendimiento de esta metodología en las matrices ambientales marinas objeto de este estudio: *Posidonia oceanica*, anélidos poliquetos y sedimentos marinos. Es por ello que se plantea como proyecto para la elaboración de una tesis doctoral, la aplicación de esta metodología de extracción y análisis de metales pesados sobre dichas matrices de gran interés en el medioambiente marino. Destacando sus ventajas analíticas (rapidez, sencillez, eficiencia, etc.) y sobretudo el hecho de ser una metodología más limpia y no contaminante.

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos del estudio bibliográfico realizado, se puede llegar a las siguientes conclusiones:

En primer lugar se confirma la eficiencia y versatilidad de las metodologías tradicionales, digestión ácida y extracción asistida por microondas, en la extracción de metales pesados de muestras medioambientales.

En segundo lugar se confirma que las matrices ambientales marinas, concretamente *Posidonia oceanica*, sedimentos y anélidos poliquetos, poseen un gran valor ambiental desde el punto de vista de la contaminación del medio marino, sirviendo como indicadores de contaminación por metales pesados.

Con respecto a la nueva metodología basada en el uso de surfactantes como extractantes, ha sido confirmada también la excelencia de ésta en la extracción de diferentes compuestos y metales pesados de matrices de diversa naturaleza, tanto sólidas como líquidas. Sin embargo, no se ha utilizado en la extracción de metales pesados de las matrices ambientales marinas objeto de este estudio.

Por tanto, y a modo de conclusión final, se propone la Extracción Micelar Asistida por Microondas (MAME) como metodología a ser aplicada a la extracción y análisis de metales pesados de la fanerógama *Posidonia oceanica*, sedimentos marinos y anélidos poliquetos.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a la Conselleria d'Educació de la Generalitat Valenciana, por la beca de Formación de Personal Investigador con carácter predoctoral otorgada a Ana Hernández-Martínez para la realización de su tesis doctoral; y al Instituto de Investigación en Medioambiente y Ciencia Marina, por permitir el desarrollo de este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- ABEL, P.D. (1989) *Water Pollution Biology*. Ellis Horwood Limited Editors. John Wiley, N. Y.
- AMIN, A.S., (2002) Microdetermination of zinc (II) in alloys and ores by visible spectrophotometric technique using 2,3-



- dichloro-6-(2-hydroxynaphthylazo)-quinoxaline in presence of mixed surfactants. *Analytical Letters*, 35(3): 585-597
- ANKLEY, G.T. *et al.*, (1992) Heavy metal concentrations in surface sediments in nearshore environment, Jurujuba Sound, Southeast Brazil. *Environ. Pollut.*, 109: 1-9.
- ARVAND, M.; ABOLGHASEMI, S.; ZANJANCHI, M.A., (2007) Simultaneous determination of Zinc and Copper (II) with 1-(2-pyridylazo)2-naphthol in micellar media by spectrophotometric H-point standard addition method. *Journal of Analytical Chemistry*, 62(4): 342-347
- ATHALYE, R.P.; GOKHALE, K.S., (1991) Heavy metals in the polychaete *Lycastis omanensis* from Thane creek, India. *Marine Pollution Bulletin*, 22 (5): 233-236
- BASUALTO, S.; TAPIA, J., (1997) Fitobentos como indicador de metales pesados. *Bol. Soc. Chil.*, 42 (3): 371-377.
- BENEDITO DURÀ, V. (1996) *Fenologia vegetativa y dinámica de acumulación de metales pesados en Posidonia oceanica*. Universitat de València. Tesis doctoral. 422pp
- BERTRÁN, C. *et al.*, (2001). *Perinereis gualpensis* Jeldes (annelida, polychaeta) como biomonitor de metales pesados en la desembocadura del río Biobío (Chile). *Información tecnológica*, 12 (4): 59-63.
- BETTINETTI, R.; GIAREL, C.; PROVINI, A. (2003). A chemical analysis and sediment toxicity bioassays to assess the contamination of the River Lambro (Northern Italy). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 45: 72-80.
- BETTJOL, C. *et al.*, (2008) Evaluation of microwaves-assisted extraction procedures for the determination of metal content and potential bioavailability in sediments. *Applied Geochemistry*, 23: 1140-1151
- BUCALOSSI, D. *et al.*, (2006) Application of a suite of biomarkers in *Posidonia oceanica* (L.) delile to assess the ecotoxicological impact on the coastal environment. *Marine Environmental Research*, 62: S327-S331
- BULAVCHENKO, A.I. *et al.*, (2003) Preconcentration of anionic metal complexes with hydrophilic surfactants on liquid spherical membranes and inverted micelles. *Journal of analytical Chemistry*, 58(7): 654-654(1).
- CALMANO, W.; HONG, J.; FORSTNER, U., (1993) Binding and mobilization of heavy metals in contaminated sediments affected by pH and redox potential. *Water Sci. Technol.*, 28 (8-9): 223-235.
- CAMPANELLA, L.; *et al.*, (2001) Trace metals in seagrass, algae and molluscs from an uncontaminated area in the Mediterranean. *Environmental Pollution*, 111: 117-126
- CAPIOMONT, A.; PIAZZI, L.; PERGENT, G., (2000) Seasonal variations of total mercury in foliar tissues of *Posidonia oceanica*. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 80: 1119-1123.
- CATSIKI, V.A.; PANAYOTIDIS, P., (1993) Copper, chromium and nickel in tissues of the Mediterranean seagrasses *Posidonia oceanica* and *Cymodocea nodosa* (Potamogetonaceae) from Greek coastal areas. *Chemosphere*, 26 (5): 963-978.
- CHANG, S-H. *et al.*, (2005) Remediation of metal-contaminated soil by an integrated soil washing-electrolysis process. *Soil & Sediment Contamination*, 14: 559-569
- CONSTANTINI, S. *et al.*, (1991). Mercury, cadmium and lead evaluation in *Posidonia oceanica* and *Codium tomentosum*. *Marine Pollution Bulletin*, 22: 362-363
- CUEVA-MESTANZA, R. *et al.*, (2008a) Preconcentration of pharmaceuticals residues in sediment samples using microwave assisted micellar extraction coupled with solid phase extraction and their determination by HPLC-UV. *Journal of Chromatography B*, 863: 150-157
- CUEVA-MESTANZA, R. *et al.*, (2008b) Microwave-assisted micellar extraction coupled with solid-phase extraction for preconcentration of pharmaceuticals in molluscs prior to determination by HPLC. *Biomedical Chromatography*, 22: 1115-1122
- DI TORO, D.M. *et al.*, (1991) Technical basis for establishing sediment quality criteria for non-ionic organic chemicals by using equilibrium partitioning. *Environ.Toxicol. Chem.*, 10: 1541-1583.
- DOĞUTAN YENIDÜNYA, M., (2006) Recovery of Zn(II), Mn(II) and Cu(II) in aqueous Solutions by foam fractionation with sodium dodecyl sulphate in combination with chelating agents. *Separation Science and Technology*, 41: 1741-1756
- ESKANDARI, H.; SAGHSELOO, A.G.; CHAMJANGALI, M.A., (2006) First- and second-derivative spectrophotometry for simultaneous determination of copper and cobalt by 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol in tween 80 micellar solutions. *Turk. Journal Chem.*, 30: 49-63
- FORSTNER, U., (1990) Contaminated sediments. *Lecture Notes in Earth Science*, vol. 21, Springer-Verlag, Berlin.
- FRANGIPANE, G. *et al.*, (2005) Heavy metals in *Hediste diversicolor* (polychaeta: nereididae) and salt marsh sediments from the lagoon of Venice (Italy). *Chemistry and Ecology*, 21 (6): 441-454
- GHREFAT, H.; YUSUF, N., (2006) Assessing Mn, Fe, Cu, Zn, and Cd pollution in bottom sediments of Wadi Al-Arab Dam, Jordan. *Chemosphere*, 65: 2114-2121
- GIBBS, R.J., (1973) Water chemistry of the Amazon River. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 36: 1006-1066.
- GIBBS, R.J., (1977) Transport phases of transition metals in the Amazon an Yukon Rivers. *Geol. Soc. Am. Bull.*, 88: 829-843.
- GORYACHEVA, I.Y. *et al.*, (2007) Extraction preconcentration with anionic surfactants in acidic solutions. *Journal of Analytical Chemistry*, 62(5): 411-415
- GRASSHOFF, K.; KREMLING, K.; EHRHARDT, M., (1999). *Methods of seawater analysis* Anderson, L.G. 3th edition. Koln (colonia) Wiley-VCH. 600 p. ISBN 3-527-29589-5
- HARTE, J. *et al.*, (1991). *Toxics A to Z, a guide to everyday pollution hazards*. University of California Press, Oxford, England. 576pp.
- HELLAWELL, J.M., (1989). *Biological indicators freshwater pollution and environmental management*. Mellamby, K (ed.) N. Y. Pollution Monitoring Series. Elsevier Applied Science. 546pp.
- HOLLERT, H. *et al.*, (2003) A new sediment contact assay to assess particulate-bound pollutants using Zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *J. Soils Sediment*, 3: 197-207.
- KORNECKI, T.S. *et al.*, (1998) Cationic surfactant feasibility for use in removal of lead from soil. *Environmental Geosciences*, 5(1): 29-38
- KULICHENKO, S.A.; DOROSHCHUK, V.A., (2003) Atomic-absorption determination of zinc in water with micellar-extraction preconcentration with phases of nonionic surfactants. *Journal of Analytical Chemistry*, 58(6): 524-527
- LAFABRIE, C. (2007) *Utilisation de Posidonia oceanica (L.) Delile comme bio-indicateur de la contamination métallique*. Università di Corsica Pasquale Paoli. Tesis doctoral. 143pp.
- LAFABRIE, C. *et al.*, (2007) Trace metals assessment in water, sediments, mussel and seagrass species-Validation of the

- use of *Posidonia oceanica* as a metal biomonitor. *Chemosphere*, 68: 2033-2039
- LAFABRIE, C.; PERGENT, G.; PERGENT-MARTINI, C., (2009) Utilization of the seagrass *Posidonia oceanica* to evaluate the spatial dispersion of metal contamination. *Science of the total Environment*, 407: 2440-2446
- LAFABRIE, C.; PERGENT-MARTINI, C.; PERGENT, G. (2008a) First results on the study of metal contamination along the Corsican coastline using *Posidonia oceanica*. *Environmental Pollution*, 151: 262-268
- LAFABRIE, C.; PERGENT-MARTINI, C.; PERGENT, G. (2008b) Metal contamination of *Posidonia oceanica* meadows along the Corsican coastline (Mediterranean). *Marine Pollution Bulletin*, 57: 155-159
- LANGSTON, W.J., (1986) Metals in sediments and benthic organisms in the Mersey Estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 23: 239-261.
- LEIVOURI, M., (1998) Heavy metal contamination in surface sediment in the Gulf of Finland and comparison with the Gulf of Bothnia. *Chemosphere*, 36: 43-59.
- LOSKA, K.; WIECHULA, D., (2003) Application of principal component analysis for the estimation of source heavy metal contamination in surface sediments from Rybnik Reservoir. *Chemosphere*, 51: 723-733.
- LUOMA, S.N.; BRYAN, G.W., (1981) A statistical assessment of the form of trace metals in oxidized estuarine sediments employing chemical extractants. *Sci. Total Environ.*, 17: 165-196.
- MACFARLANE, G.R.; BURCHETT, M.D., (2000) Cellular distribution of Cu, Pb and Zn in the Grey Mangrove *Avicennia marina* (Forsk.). *Aquat. Bot.*, 68: 45-59.
- MAHER, W.A.; AISLABIE, J., (1992) Polycyclic aromatic hydrocarbons in nearshore marine sediments of Australia. *Sci. Total Environ.*, 11 (2-3): 143-164.
- MALEA, P.; HARITODINIS, S.; KEVREKIDIS, T., (1994) Seasonal and local variations of metal concentration in the seagrass *Posidonia oceanica* (L.) Delile in the Antikyra Gulf, Greece. *Sci. Total Environ.*, 153 (3): 225-235.
- MARTÍNEZ-CREGO, B.; VERGÉS, A.; ALCOVERRO, T.; ROMERO, J., (2008) Selection of multiple seagrass indicators for environmental biomonitoring. *Marine Ecology Progress Series*, 361: 93-109
- MASERTI, B. E.; FERRERA, R.; PATERNO, P., (1988) *Posidonia* as an indicator of Mercury contamination. *Mar. Pollut., Bull* 19:381-382.
- MCCREADY, S.; BIRCH, G.F.; TAYLOR, S.E., (2003) Extraction of heavy metals in Sydney Harbour sediments using 1M HCl and 0.05M EDTA and implications for sediment-quality guidelines. *Australian Journal of Earth Sciences* 50: 249-255
- MILLWARD, G.E. *et al.*, (1999) Metals in the sediments and mussels of the Chupa Estuary (White Sea) Russia. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 48: 13-25
- MONTEFALCONE, M. *et al.*, (2006) A new synthetic index and a protocol for monitoring the status of *Posidonia oceanica* meadows: a case study at Sanremo (Ligurian Sea, NW Mediterranean). *Aquatic Conservation: Mar. Freshw. Ecosyst.*, 16: 29-42
- NUREMBERG, H.W., (1984) The voltammetric approach in trace metal chemistry of natural Waters and atmospheric precipitation. *Anal. Chim. Acta* 164, 1-21.
- PADRÓN-SANZ, C. (2005). *Extracción micelar de compuestos organoclorados y organofosforados. Aplicación a su determinación por cromatografía líquida en muestras medioambientales*. Universidad de las Palmas de Gran Canaria. Tesis doctoral. 228pp.
- PADRÓN-SANZ, C. *et al.*, (2005) Combination of microwave assisted micellar extraction and liquid chromatography for the determination of organophosphorous pesticides in soil samples. *Journal of Chromatography A*, 1078: 13-21
- PAZOS-CÁPENS, P. *et al.*, (2005) Chromium available fractions in aorusa sediments using a modified microwave BCR protocol base don microwave assisted extraction. *Talanta*, 65: 678-685
- PERGENT-MARTINI, C. (1998) *Posidonia oceanica*: a biological indicator of past and present mercury contamination in the Mediterranean sea. *Mar. Environ. Res.*, 45: 101-111.
- ROMERO, J. *et al.*, (2007) A multivariate index base don the seagrass *Posidonia oceanica* (POMI) to assess ecological status of coastal waters under the water framework directive (WFD). *Marine Pollution Bulletin*, 55: 196-204
- ROSAS RODRÍGUEZ, H. (2001). *Estudio de la contaminación por metales pesados en la cuenca del Llobregat*. Universitat Politècnica de Catalunya. Tesis doctoral. 330pp.
- SAFAVI, A.; ABDOLLAHI, H., (2001) Simultaneous spectrophotometric cobalt, and nickel by partial least squares calibration method in micellar medium. *Analytical letters*, 34 (15): 2817-2827
- SAL'NIKOV, Y.I. *et al.*, (2005) Reaction of N,N-Dimethyl-NN-(2-hydroxybenzyl)ethylenediamine with Copper(II) in the Presence of Surfactants. *Russian Journal of General Chemistry*, 75(3): 345-348
- SANCHIZ, C. *et al.*, (1990) Bioaccumulation of heavy metals in *Posidonia oceanica* (L.) Delile and *Cymodocea nodosa* (Ucria) Aschers. At an uncontaminated site on the east coast of Spain. *Rapp. Comm. Int. Mer Médit.*, 32: 13.
- SANCHIZ, C.; GARCÍA-CARRASCOSA, A.M.; PASTOR, A., (2000) Heavy metals contents in soft-bottom marine macrophytes and sediments along the Mediterranean coast of Spain. *Marine Ecology*, 21 (1): 1-16
- SANTANA RODRÍGUEZ, J.J. *et al.*, (2008) Recent trenes in the use of organozad molecular Systems combined with chromatographic techniques in environmental análisis. *Anal. Bioanal. Chem.* 391: 725-733
- SCHLACHER-HOENLINGER, M.A.; SCHLACHER, T.A., (1998) Accumulation, contamination, and seasonal variability of trace metals in the coastal zone – patterns in a seagrass meadow from the Mediterranean. *Mar. Biol.*, 131: 401-410.
- SCHUURMANN, G.; MARKET, B., (1998). *Ecotoxicological, ecological fundaments, chemical exposure, and biological effects*. John Wiley & Sons Inc, and Spektrum Akademischer Verlag.
- SHIN, M.; BARRINGTON, S., (2005) Effectiveness of the iodide ligand along with two surfactants on desorbing heavy metal sfrom soils. *Water, Air and Solis Pollution*, 161: 193-208
- SINGH, A.; TURNER, A., (2009) Surfactant-induced mobilisation of trace metals from estuarine sediment: Implications for contaminant bioaccessibility and remediation. *Environmental Pollution*, 157: 646-653
- SOSA, Z. *et al.*, (2004). Recent trends in the use of micellar systems in the extraction and preconcentration of organic pollutants in environmental samples. *Trends Anal. Chem.*, 23(7): 469-479.
- SPANOS, T. *et al.*, (2008) Environmetrics to evaluate marine environment quality. *Environ. Monit. Assess* 143: 215-225



- TRANCHINA, L. *et al.*, (2005) Trace metals in *Posidonia oceanica* seagrass from Routh-eastern Sicily. *Chemistry and Ecology*, 21 (2): 109-118
- WARNAU, M.; FOWLER, S. W.; TEYSSIE, J.L., (1996) Heavy metals in *Posidonia oceanica* and *Paracentrotus lividus* from seagrass beds of the north-western Mediterranean. *Mar. Environ. Res.*, 41: 343-364.
- WARNAU, M. *et al.*, (1995) Biokinetics of selected heavy metals and radionucleides in two marine macrophytes: *Posidonia oceanica* and the alga *Caulerpa taxifolia*. *Sci. Total Environ.*, 177 (1-3): 95-99.
- metal species in synthetic Solutions and natural waters using DGT. *Anal. Chem.*, 72: 4447-4457.
- WEN, X.; ALLEN, H.E., (1999) Mobilization of heavy metals from Le An River sediments. *Sci. Total Environ.*, 227: 101-108.
- WILSON, J.G., (1994) The role of bioindicators in estuarine management. *Magement estuarior*, 17 (1): 94-101.
- ZHANG, H.; DAVISON, W., (2000) Direct in situ measurements of labile inorganic and organically bound