

EXTRACCIONES QUIMICAS SECUENCIALES DE METALES PESADOS. APLICACION EN CIENCIAS GEOLOGICAS

P. L. López Julián* y J. M. Mandado Collado**

RESUMEN

Las metodologías de extracción química secuencial se aplican en Geología con el objetivo de determinar la especiación de los metales traza en suelos, sedimentos o rocas, información que no se puede conseguir a partir únicamente de un análisis químico convencional sobre muestra total. En la actualidad existe una amplia variedad de protocolos de extracción secuencial diferentes, sin haberse impuesto todavía uno de ellos como un método estándar plenamente aceptado.

Las fracciones de metales pesados que comúnmente se suelen diferenciar en los sólidos mediante este tipo de metodologías son: intercambiable, asociada a carbonatos, asociada a óxidos Fe y Mn, asociada a materia orgánica y fracción residual. Los distintos protocolos existentes difieren en los reactivos empleados y también en las condiciones experimentales, todo ello dependiendo de los objetivos concretos del estudio a realizar.

Las extracciones secuenciales han encontrado unos campos de aplicación muy amplios en las ciencias geológicas, sobre todo en los estudios de geoquímica ambiental en medios acuáticos (ríos, lagos, estuarios), en edafología y también en hidrología subterránea.

Los protocolos de extracción secuencial adolecen, en conjunto, de una serie de problemas metodológicos de cierta envergadura y que han sido abordados por distintos autores, pudiendo destacar entre ellos la selectividad de los reactivos empleados, la propia definición operativa de estos métodos, la redistribución (o readsorción) elemental, las condiciones experimentales bajo las que se pueden ejecutar los protocolos, la escasez de materiales sólidos de referencia y, derivados de este último problema, la dificultad de validación de los distintos métodos y la evaluación de su precisión. A pesar de todos estos inconvenientes metodológicos, los procedimientos de extracción secuencial constituyen en la actualidad la mejor aproximación para describir la asociación geoquímica de los elementos traza con las diferentes fracciones de los sólidos.

Palabras clave: *Especiación, metales traza, redistribución, disponibilidad, geoquímica ambiental.*

ABSTRACT

Sequential chemical extraction methodologies are applied in Geological Sciences with the objective of determining the solid speciation for trace metals present in soil, sediment and rock samples. Such information is not available from a conventional chemical analysis. At the present time a wide variety of sequential protocols exists, but none of them has been imposed as an international standard method as yet.

The fractions of solid material that these protocols usually allow to distinguish are the following: Exchangeable, carbonate, Fe-Mn oxide-hydroxide, organic, and residual. Different methods differ in the used reagents as well as in the experimental conditions, depending on the particular objectives.

Sequential extraction methods are used in different fields of geological sciences, mainly in environmental geochemistry of aquatic systems (rivers, lakes, estuaries), edaphology and also in groundwater hydrology.

In general, sequential extraction protocols involve important methodological problems which have been pointed out for several authors. Among these problems are the

* Area de Petrología y Geoquímica. Dpto. Ciencias de la Tierra. Universidad de Zaragoza. 50009 Zaragoza (España). E-mail: pllopez@unizar.es

** Area de Petrología y Geoquímica. Dpto. Ciencias de la Tierra. Universidad de Zaragoza. 50009 Zaragoza (España). E-mail: jmandado@unizar.es

following: Reagent selectivity, operative definition of methods, elemental redistribution (or readsorption), variable experimental conditions, scarcity of reference solid certified materials, strong difficulty in order to validate the existing methods, and the evaluation of its precision. In spite of all methodological problems mentioned, at the present time sequential extraction protocols constitute the better approach in order to describe the geochemical association of trace elements with different fractions of solid materials.

Key words: *Speciation, trace metals, redistribution, availability, environmental geochemistry.*

Introducción

Las extracciones químicas secuenciales constituyen una metodología operativa consistente en la exposición de una muestra sólida frente a una serie de soluciones reactivas de características fisicoquímicas distintas. En campos de investigación relacionados con las ciencias geológicas, las muestras sólidas que se someten a este tipo de procedimientos son principalmente fragmentos de sedimentos, rocas y suelos. La finalidad que se persigue al aplicar una metodología de extracción química secuencial es determinar, con la mayor precisión posible, la distribución de los elementos traza existentes en una muestra sólida entre fracciones de distinta naturaleza fisicoquímica. A esta distribución se le ha denominado «especiación», y se ha comprobado que el reparto elemental determinado mediante la aplicación de una metodología de este tipo tiene una relación directa con el comportamiento geoquímico y la biodisponibilidad de los elementos químicos en condiciones naturales (Nirel y Morel, 1990).

La determinación analítica del contenido total de elementos traza en sedimentos y rocas no suministra la información necesaria para determinar las asociaciones de fase de dichos elementos, ni tampoco permite deducir su potencial capacidad de movilización (Thomas *et al.*, 1994), circunstancia que sin duda ha contribuido de manera importante a la aparición y posterior desarrollo de las metodologías de extracción secuencial.

Desde una perspectiva puramente geológica, la utilización de estas metodologías y la información así obtenida posibilita estudiar los procesos geoquímicos que conducen a una determinada pauta de especiación, por lo que tiene una aplicación directa en campos como la sedimentología, la edafología, la diagénesis e incluso el metamorfismo. Por ejemplo, las reacciones que tienen lugar en la interfase sedimento-agua o en las capas superiores de los sedimentos son muy importantes en el ciclo global de los elementos traza. Estas capas más superficiales de los sedimentos son, de hecho, la zona donde tienen lugar diferentes reacciones diagénicas que pueden influenciar profundamente el comportamiento de los elementos metálicos traza,

entre las que destacan la formación de oxihidróxidos y sulfuros de hierro y manganeso y la degradación de la materia orgánica lábil (Lyle *et al.*, 1984; Murray, 1985).

La determinación de los perfiles de especiación, es decir, del reparto de los elementos traza entre las distintas fracciones de un sólido, permite profundizar en el conocimiento tanto de la potencial movilidad de dichos elementos como de su disponibilidad biológica (Raksataya *et al.*, 1996; Breward *et al.*, 1996), lo que constituye una clara aplicación de estas metodologías en disciplinas asociadas a las ciencias ambientales. Como consecuencia de la intensa actividad industrial desarrollada en muchas áreas geográficas durante los dos últimos siglos, existe actualmente en el ambiente acuático una elevada proporción de metales traza que se presentan en una gran variedad de formas disueltas, coloidales y particuladas (estas últimas bien como materia en suspensión en medios acuáticos o bien como sedimentos de fondo), con distintas propiedades biogeoquímicas, que pueden tener una influencia determinante en su movilidad y biodisponibilidad (Tessier *et al.*, 1989). El interés suscitado en las tres últimas décadas por la preservación del medio ambiente ha permitido constatar el escaso conocimiento que se posee sobre los procesos que gobiernan tanto la captación de metales (y elementos traza en general) por parte de los sedimentos como su liberación a los medios hídricos que se encuentran en contacto con ellos.

En la actualidad existe una amplia variedad de protocolos de extracción secuencial que difieren en el número de etapas de ataque, en los reactivos empleados o en las condiciones experimentales bajo las cuales se desarrollan. En algunos casos se emplean con una finalidad meramente descriptiva (determinar la especiación en determinados materiales geológicos), pero en otros se utilizan con un objetivo claramente aplicado y complementando a otras metodologías experimentales. Todo ello ha dado lugar a una situación como la actual, en la que no existe un protocolo estándar de extracción secuencial aceptado por la comunidad científica, lo cual dificulta en gran medida la comparación de los resultados obtenidos por distintos laboratorios. Además, existen diversos problemas relacionados

tanto con la propia metodología de las extracciones selectivas (ataques químicos en una sola etapa) como con el carácter secuencial de los protocolos, que ha contribuido a complicar la aceptación definitiva de este tipo de planteamientos experimentales por una parte de la comunidad científica. A pesar de todos estos inconvenientes, los procedimientos de extracción secuencial constituyen en la actualidad la mejor aproximación para describir la asociación geoquímica de los elementos traza con las diferentes fracciones de los sólidos.

El objetivo primordial de este trabajo es analizar el estado actual de las metodologías de extracción secuencial, cuestión no trivial dada la gran diversidad tanto de protocolos existentes como de problemas metodológicos asociados a estos procedimientos experimentales y que han sido puestos de manifiesto en estudios críticos previos.

Evolución histórica

Las extracciones químicas secuenciales tienen su antecedente histórico y metodológico directo en las extracciones químicas simples, también denominadas comúnmente «ataques selectivos», que consistían en la aplicación de una solución reactiva a una muestra sólida y cuyo objetivo fundamental era la extracción de elementos traza (principalmente metales) asociados a la fase específica del sólido que no era resistente a dicho ataque. La utilización de soluciones selectivas para cuantificar el contenido elemental en una determinada fase de un sólido proviene del concepto expuesto por Viets (1962) para materiales edáficos, quien planteó la existencia de reservorios de elementos con distintas solubilidades y capacidades de movilización, y que por tanto podrían ser selectivamente muestreados mediante el uso de soluciones extractantes de distinta fuerza.

El trabajo de Chester y Hughes (1967) ofrece una recopilación de los métodos de extracción simple existentes hasta entonces y una clasificación en función de la naturaleza química del ataque realizado. Estos autores diferenciaron métodos que empleaban EDTA (Hodgson, 1960), métodos que utilizaban ácidos inorgánicos (Ray *et al.*, 1957; Hirst y Nicholls, 1958; Arrhenius y Korkish, 1959; Hodgson, 1960), métodos que empleaban agentes reductores (Arrhenius y Korkish, 1959; Chester y Hughes, 1967) y, finalmente, métodos que aplicaban conjuntamente ácidos inorgánicos y agentes reductores (Chester y Hughes, 1967).

El desarrollo de este tipo de metodologías vino motivado, en gran medida, por el potencial beneficio económico que se pretendía obtener mediante la

extracción de los metales traza asociados a los sedimentos marinos, y fundamentalmente a los nódulos de Fe y Mn en ellos presentes, aunque también existía un interés científico por determinar tanto los procesos que controlaban la incorporación de elementos traza a los sedimentos pelágicos como la distribución de estos elementos entre los componentes de dichos materiales sedimentarios (Chester y Hughes, 1967). Otros trabajos de recopilación de métodos de extracción química simple más recientes son los realizados por Chao (1984) y por Kersten y Förstner (1989). La aplicación de estas metodologías de extracción química simple ha mostrado un auge renovado en la última década, sobre todo en el campo de la exploración geoquímica (Hall *et al.*, 1996), disciplina en la cual también se aplicaron metodologías de extracción secuencial en la década de los años ochenta (Chao, 1984; Cardoso Fonseca y Martin, 1986).

Un trabajo de importancia capital en el campo de las extracciones químicas secuenciales lo constituye el realizado por Tessier *et al.* (1979; en adelante aparecerá citado únicamente con el nombre del primer autor), en el que se presentaba y describía de manera detallada un protocolo de aplicación secuencial de reactivos según cinco etapas, que permitiría obtener información sobre el origen y el modo de presentarse de los metales traza en los sedimentos, así como acerca de su disponibilidad biológica y fisicoquímica, su movilización y su transporte.

Dado que el interés sobre el impacto ambiental de los metales comenzó a adquirir importancia durante la década de los setenta, paralelamente creció la necesidad de estudiar el grado de enlace de los metales traza tanto con los sedimentos de sistemas fluviales y lacustres como con los materiales edáficos, para todo lo cual las extracciones químicas secuenciales constituyeron una herramienta muy valiosa en un momento en que las metodologías existentes ofrecían una aproximación muy limitada. Así, se comenzaron a desarrollar diversas líneas de investigación que incluían el desarrollo y la utilización de procedimientos de extracción secuencial, entre las cuales cabe citar los programas de recuperación de suelos contaminados por metales pesados, o también la determinación del contenido en metales de sedimentos fluviales en zonas industriales y su potencial de removilización en función de las condiciones ambientales. Del mismo modo, se desarrollaron otros métodos de extracción secuencial (por ejemplo, el método BCR, de Thomas *et al.*, 1994, y el método de Hall *et al.*, 1996), así como múltiples esquemas metodológicos basados en el protocolo de Tessier o en modificaciones del mismo.

Metodología operativa

Los procedimientos de extracción química secuencial poseen una metodología común basada en la exposición sucesiva de una misma muestra sólida a soluciones extractantes de fuerza creciente y/o de características diferentes. Estos agentes empleados en los ataques pueden clasificarse, de un modo global y según Tessier y Campbell (1988), de la manera siguiente:

- a) Electrolitos inertes concentrados.
- b) Ácidos débiles.
- c) Agentes reductores.
- d) Agentes acomplejantes.
- e) Agentes oxidantes.
- f) Ácidos fuertes.

Además del orden de aplicación de las soluciones también puede variar el resto de condiciones experimentales (como por ejemplo la duración temporal de los ataques, la temperatura o las condiciones de agitación), todo ello siempre en función de los objetivos perseguidos en cada estudio concreto.

Hasta la fecha todavía no existe una secuencia de aplicación de estas soluciones reactivas plenamente aceptada, ni todos los métodos desarrollados incluyen la totalidad de los agentes citados en la lista anterior. Todo ello condiciona que los distintos protocolos de extracción secuencial consultados empleen un conjunto de reactivos seleccionados en función de sus objetivos particulares, que se aplican además según un orden determinado por los autores dependiendo de factores de diversa índole (naturaleza y composición de la muestra sólida, fases específicas de la muestra que se desean extraer...). A pesar de todo ello existen cinco clases de fracciones o fases constituyentes de los sólidos que suelen ser objetivo común de las investigaciones llevadas a cabo en el campo de las extracciones químicas secuenciales, que coinciden además con las etapas de ataque establecidas en el protocolo de Tessier y que, expuestas en su orden secuencial y con los tipos de reactivos que se aplican, son las que siguen:

- a) Fase intercambiable (*electrolitos concentrados*)
- b) Fracción carbonatada (*ácidos débiles*)
- c) Fracción de óxidos y oxihidróxidos metálicos (de Fe y Mn, principalmente) (*agentes reductores*)
- d) Fracción ligada a la materia orgánica (*agentes oxidantes*)
- e) Fracción residual (*ácidos fuertes*)

En la referencia original de este método se exponen de un modo detallado tanto los reactivos empleados para atacar selectivamente y en secuencia las fracciones citadas, como una detallada discusión sobre los antecedentes existentes hasta la fecha de su publicación en relación con los diferentes tipos de soluciones empleadas por otros autores en ataques químicos selectivos.

Existen abundantes estudios en los que se ha evaluado la adsorción de elementos traza sobre partículas presentes comúnmente en suelos y sedimentos como son los minerales de la arcilla, los óxidos hidratados de hierro y manganeso o los ácidos húmicos. Los metales asociados de este modo a los sedimentos constituyen la **fracción intercambiable** de los mismos, y para su liberación selectiva se han empleado reactivos diferentes como son las soluciones de acetato amónico o de cloruro de magnesio, todas ellas en distintos grados de concentración. La solución de acetato amónico ha sido frecuentemente empleada con esta finalidad (por ejemplo, Salomons y Förstner, 1980), pero dado que muy posiblemente pueda solubilizar también parte de la fracción carbonatada, se ha optado en muchos protocolos por la utilización de una solución de cloruro de magnesio. Así, el ataque específico para solubilizar la fase intercambiable presentado en el método de Tessier consistía en una solución de $MgCl_2$ 1 M, a pH 7, durante una hora, a temperatura ambiente y con agitación continua. De manera alternativa se proponía para esta fracción un ataque con acetato de sodio 1 M, a pH 8.2, durante una hora, a temperatura ambiente y con agitación continua.

Dado que los minerales carbonatados presentes en suelos y sedimentos son susceptibles a los cambios de pH, los metales asociados a la **fracción carbonatada** (es decir, precipitados o coprecipitados con carbonatos) se suelen solubilizar empleando soluciones reactivas con pH ácido y de diversa composición. En el esquema de Tessier se empleó una solución de acetato sódico 1 M, a pH 5 ajustado con ácido acético, que se mostró efectiva para disolver calcita y dolomita y liberar así los metales ligados a estos minerales sin atacar la materia orgánica, los óxidos o las superficies de los minerales de la arcilla (Yong *et al.*, 1993). Este mismo reactivo se ha empleado también por otros autores para extraer los metales traza asociados a la fracción carbonatada (Kersten y Förstner, 1986; Thomas *et al.*, 1994).

Los óxidos y oxihidróxidos de hierro y manganeso se presentan en los sedimentos y rocas como nódulos, concreciones, material cementante o también formando películas sobre partículas de diferente naturaleza. Estos óxidos y oxihidróxidos aparecen en un grado muy variable de cristalinidad, son excelentes captadores de elementos metálicos traza y son termodinámicamente inestables bajo condiciones anóxicas. Los métodos más apropiados para extraer la **fracción ligada a óxidos y oxihidróxidos de Fe y Mn** (y movilizar así los metales a ellos asociados) incluyen la acción combinada de reactivos que reducen el hierro y el manganeso a sus formas ferrosa y manganosa, respectivamente, junto a agentes capaces de mantener en solución las cantidades liberadas de metales, que suelen ser relativamente elevadas. La combinación de reactivos empleada por Tessier para atacar a esta fracción es una de las más comúnmente usadas, y consiste en una solución de clorhidrato de hidroxilamina 0.04 M y ácido acético (25% v/v), a una temperatura de 96 °C.

En algunos estudios se ha planteado para esta fracción una extracción en dos pasos, distinguiendo así la fácilmente reducible de la moderadamente reducible. Este es el caso del método presentado por Salomons y Förstner (1980), que emplearon para extraer la fracción fácilmente reducible una solución de clorhidrato de hidroxilamina y ácido nítrico, mientras que, en un segundo paso, recuperaban la fracción moderadamente reducible mediante el uso de una solución de oxalato amónico acidificada con ácido oxálico. La intención que se persigue al dividir en dos la fracción reducible es diferenciar la ligada a óxidos y oxihidróxidos de manganeso, o fácilmente reducible, de la que está asociada a óxidos y oxihidróxidos de hierro, denominada moderadamente reducible (ver, por ejemplo, el trabajo de Koschinsky y Halbach, 1995, que aplican un planteamiento de este tipo al estudio de sedimentos pelágicos). Por otra parte, el método propuesto por Hall *et al.* (1996) incluye una extracción de metales ligados a óxidos amorfos de Fe mediante una solución de clorhidrato de hidroxilamina 0.25 M en ácido clorhídrico, a 60 °C, seguida por la extracción de los metales asociados a óxidos cristalinos de Fe, esta vez usando una solución de clorhidrato de hidroxilamina 1 M en ácido acético, y a una temperatura de 90 °C.

Los metales traza pueden aparecer ligados en los sedimentos a diferentes formas de materia orgánica (organismos vivos, detritus, películas sobre partículas minerales...), y los mecanismos de enlace de estos metales con la fracción de materia orgánica incluyen procesos tales como acomplejamiento, adsorción y quelación (Yong *et al.*, 1993). La materia orgánica se degrada en condiciones naturales oxidantes, dando lugar a la liberación de los metales traza asociados a ella. El reactivo más comúnmente empleado para extraer la **fracción ligada a la materia orgánica** es el peróxido de hidrógeno; por ejemplo, en el procedimiento de Tessier se adapta el método propuesto originalmente por Gupta y Chen (1975; citado en Tessier *et al.*, 1979), el cual consistía en una solución de H_2O_2 al 30% v/v, a pH 2 ajustado con ácido nítrico, durante cinco horas y a una temperatura de 85 °C, seguido todo ello por una extracción con acetato amónico 3.2 M en ácido nítrico al 20% v/v, esta vez a temperatura ambiente.

Tras la separación de las cuatro primeras fracciones, ya citadas, el sólido residual debe contener principalmente minerales primarios y secundarios que incluyen elementos traza en sus estructuras cristalinas. Es esperable que estos elementos ligados

a la **fracción residual** no se solubilizan fácilmente ni en un intervalo de tiempo razonablemente corto, al menos bajo las condiciones normalmente reinantes en la naturaleza, por lo que se considera que estos elementos traza sólo pueden movilizarse mediante la digestión del sólido residual utilizando ácidos fuertes y a elevadas temperaturas. Este ataque final se lleva a cabo mediante fusión alcalina o bien empleando disoluciones obtenidas como mezcla de ácidos fuertes, aunque en la actualidad se está imponiendo la digestión en hornos microondas (Ure, 1995). En el protocolo de Tessier se empleó para este ataque final una solución mezcla de ácido fluorhídrico, ácido nítrico y ácido perclórico.

Desde la publicación en 1979 del esquema operativo diseñado por Tessier y sus colaboradores, ha habido multitud de trabajos encaminados a verificar la validez de los resultados obtenidos mediante la aplicación de este protocolo a diferentes tipos de materiales sólidos. De este modo, mientras muchos investigadores han utilizado y modificado en función de sus objetivos particulares el método original de Tessier, alabando sus bondades o criticando algunos de sus aspectos conceptuales o prácticos, otros han dirigido sus esfuerzos hacia el desarrollo de esquemas alternativos de extracción secuencial. Entre los segundos destaca, de manera sobresaliente, el trabajo de Thomas *et al.* (1994), quienes ante la falta de un protocolo estándar plenamente verificado y aceptado por la comunidad científica, desarrollaron bajo los auspicios del Community Bureau of Reference de la Comisión Europea (actualmente «Standards, Measurements and Testing Programme») un método de extracción secuencial encaminado a unificar los esfuerzos realizados en este campo. Este método está siendo revisado y mejorado (Rauret *et al.*, 1999), y a su vez se está empleando para preparar y caracterizar adecuadamente materiales sólidos de referencia cuyo desarrollo se espera que permita la comparación directa, en términos de precisión, de los resultados obtenidos por diferentes laboratorios. El objetivo último de este proyecto es conducir a la adopción de este procedimiento de extracción como método internacional estándar, ya que ha sido diseñado para alcanzar un compromiso entre el tiempo de análisis empleado y la cantidad y calidad de la información que permite obtener. Este protocolo está estructurado en tres etapas en las que se procede a la extracción de las fases que se detallan a continuación:

a) **Fase soluble en ácido** (fundamentalmente carbonatos), mediante una solución de ácido acético 0.11 M.

b) **Fase reducible** (óxidos de hierro y manganeso), utilizando para ello una solución de clorhidrato de hidroxilamina 0.1 M a pH 2 ajustado con ácido nítrico.

c) **Fase oxidable** (principalmente materia orgánica y sulfuros), mediante el ataque con una solución de H_2O_2 8.8 M, a pH 2 ajustado con acetato amónico.

Este esquema operativo ya ha sido aplicado por algunos investigadores, e incluso se han publicado estudios comparativos entre los resultados que se obtienen al aplicar este protocolo y el de Tessier, como son los trabajos de Raksasataya *et al.* (1996) y de Pérez-Cid *et al.* (1996).

Problemas metodológicos

La problemática asociada a las metodologías de extracción secuencial es variada y suele constituir una parte considerable de los trabajos de investigación en los que se emplean. Algunos trabajos publicados incluso critican la utilización de los protocolos secuenciales sin haberse procedido previamente a la validación de su capacidad para suministrar resultados analíticos fiables (Robinson, 1984; Sholkovitz, 1989; Nirel y Morel, 1990). A continuación

se enumeran los problemas más comunes encontrados en la literatura sobre esquemas de extracción secuencial.

Selectividad de los reactivos

Por «selectividad» se entiende la capacidad de un reactivo para atacar una única fracción del material sólido, permaneciendo las restantes fracciones indiferentes a dicho ataque (en algunas ocasiones se suele emplear con el mismo sentido la palabra «especificidad»). Se trata de un criterio de importancia capital a la hora de seleccionar unos reactivos determinados para diseñar un procedimiento de extracción secuencial.

En el análisis de la selectividad de los reactivos en esquemas de extracción secuencial se han empleado fundamentalmente dos tipos de evidencias. Por un lado, los análisis químicos de las soluciones reactivas tras la realización de los ataques; mediante este procedimiento se intenta controlar los componentes del sedimento que son solubilizados en cada paso sucesivo de extracción, y que por tanto van a aparecer en los lixiviados junto a los metales traza. Por ejemplo, la identificación de C en solución tras la primera extracción del método de Tessier nos indicaría que, además de elementos ligados a la fracción intercambiable, se habrían lixiviado parcialmente la fracción carbonatada o bien la oxidable, en función de la naturaleza inorgánica u orgánica del carbono detectado.

Por otra parte, la selectividad de los reactivos se puede valorar mediante la realización de análisis mineralógicos del material sólido por difracción de rayos X, previamente y después de cada ataque; no obstante, se ha podido comprobar que la obtención de conclusiones claras mediante esta metodología presenta varios obstáculos, como son las diferencias relativas a la orientación preferente entre las fases en muestras antes y después del tratamiento, la heterogeneidad de las muestras, la posible cristalización de nuevos compuestos sólidos como resultado del tratamiento, la posible disolución parcial de fases sólidas utilizadas para calibrar la intensidad de los picos de difracción y, finalmente, las distintas pautas de difracción según las fracciones de tamaño escogidas para el análisis (McCarty *et al.*, 1998).

El problema de la selectividad de los reactivos continúa siendo una cuestión de gran importancia todavía sin resolver (Yong *et al.*, 1993), y hay autores que afirman que aún no se ha catalogado ningún reactivo totalmente específico (McCarty *et al.*, 1998). Se ha comprobado que los reactivos más comúnmente empleados en estas metodologías no son totalmente selectivos, es decir, no son capaces

de solubilizar una única fracción de los sólidos (Jones *et al.*, 1984). Este hecho queda gráficamente reflejado en el trabajo de Ure (1995, pág. 91), donde se puede observar que el ámbito de influencia de los reactivos se extiende más allá de los límites de una única fase, a excepción únicamente de los utilizados para extraer la fracción intercambiable.

Definición operativa

Una crítica fundamental que reciben en conjunto los procedimientos de extracción secuencial es la relativa a su capacidad para definir, de una manera absoluta e inequívoca, la fracción de sólido que es atacada en cada una de las fases del protocolo aplicado. Este problema deriva directamente de la variable (y parece ser que nunca completa) selectividad de los reactivos utilizados (Kheboian y Bauer, 1987), hecho que parece demostrar la incapacidad de los métodos de extracción secuencial para determinar entidades químicas que puedan definirse por algo más preciso que el propio método analítico empleado. Todo ello lleva a la conclusión de que los resultados que se obtienen mediante la aplicación de un método de extracción secuencial están «operativamente definidos», y es el propio proceso de fraccionamiento químico aplicado a la muestra sólida el que define la fracción obtenida (Tessier *et al.*, 1979; Pérez-Cid *et al.*, 1996).

Las críticas más agresivas resaltan que mientras que el significado de unos resultados analíticos cualesquiera debe necesariamente quedar limitado por los propios procedimientos analíticos empleados, es precisamente el grado en el que dichos resultados son independientes de los procedimientos utilizados el que les proporciona un significado y una utilidad. Algunos de los criterios más importantes a la hora de establecer un método analítico, cuales son la fundamentación teórica, la validación cruzada con otras técnicas y la independencia de los resultados respecto de las particularidades de las muestras analizadas, no pueden aplicarse a los procedimientos de extracción secuencial, y los resultados definidos operativamente son simplemente resultados que no pueden ser validados (Nirel y Morel, 1990).

Ausencia de validación de los protocolos experimentales

Cualquier técnica analítica que vaya a ser utilizada sobre muestras naturales complejas debería, en primer lugar, ser validada mediante su aplicación a muestras bien definidas. El proceso de validación se entiende en este caso particular como la comproba-

ción de los resultados que ofrece una técnica de extracción secuencial al aplicarse a unas determinadas muestras patrón que poseen una especiación de elementos traza conocida. En la literatura se han documentado varios intentos de validación con resultado negativo (Rendell *et al.*, 1980; Meguellati, 1982; Tipping *et al.*, 1985; Nirel, 1987; Martin *et al.*, 1987; Kheboian y Bauer, 1987), en los cuales la distribución medida de elementos traza en las diferentes fracciones no correspondía a la que había sido previamente preparada.

La validación de los protocolos experimentales, el grado de precisión alcanzable por los mismos y la valoración cuantitativa de la incidencia de la redistribución elemental van a depender del desarrollo previo de materiales sólidos de referencia con una especiación conocida. La práctica ausencia de materiales de referencia durante mucho tiempo ha impedido valorar el grado de precisión de los métodos de extracción secuencial (Yan *et al.*, 1999), pero el desarrollo reciente del método BCR y el intento de establecerlo como protocolo estándar ha permitido comenzar la tarea de preparación de materiales con una especiación conocida. Así, en el reciente trabajo de Ryan *et al.* (2002) se cita la existencia del sedimento certificado denominado SRM33, desarrollado por el mismo programa europeo que produjo el método BCR. El desarrollo y utilización de este tipo de materiales de referencia va a permitir comprobar el grado de precisión de las diferentes metodologías de extracción secuencial, así como comparar cuantitativamente la calidad de los resultados que se obtengan en distintos laboratorios.

Precisión de los métodos de extracción secuencial

Entendiendo la «precisión» de los métodos de extracción secuencial como el grado de ajuste que se puede calcular entre replicados, se han documentado problemas para la reproducibilidad de las mediciones a causa de la heterogeneidad de las muestras naturales empleadas (Tessier *et al.*, 1979). En otras ocasiones, la precisión se ve afectada por la proximidad al límite de detección de los métodos analíticos empleados para las determinaciones químicas en las soluciones reactivas (Hall *et al.*, 1996).

Como norma general, la precisión de los resultados obtenidos mediante un procedimiento secuencial está inversamente relacionada con el número de etapas extractivas de que consta el protocolo, debido principalmente a la manipulación del material entre una etapa y la siguiente.

El método generalmente usado para evaluar la precisión de los resultados obtenidos consiste en comparar la suma de los contenidos de metales en

las distintas fracciones con la concentración total en la muestra inicial. Se suelen considerar satisfactorios los resultados obtenidos al comprobar que la suma del contenido de metales traza en las fracciones extraídas se encuentra en un rango de variación no superior a $\pm 10\%$ del valor total del metal en la muestra no tratada (Tessier *et al.*, 1980; Pickering, 1986; Yan *et al.*, 1999).

Algunos estudios han valorado la precisión de los métodos de extracción secuencial de un modo comparativo, esto es, sometiendo una misma muestra a dos esquemas diferentes y observando las discrepancias en los cuadros de especiación calculados. En este sentido, Dhoum y Evans (1998) afirman que la aplicación de más de un método de extracción secuencial sobre una muestra dada puede permitir, al menos en teoría, obtener un mejor diagnóstico acerca de los mecanismos de retención de los elementos traza sobre el material sólido.

Redistribución elemental

El problema conocido como redistribución elemental (también denominado «readsorción») tiene lugar cuando elementos traza liberados en una etapa de un esquema de extracción secuencial se asocian a otra fracción del material sólido, previamente a la recuperación de la solución reactiva. Este proceso puede enmascarar la asociación real de los elementos traza con las fracciones sólidas de los materiales analizados, complicando de este modo la correcta interpretación de los resultados obtenidos (Kheboian y Bauer, 1987).

Los efectos de la redistribución elemental han impedido los intentos iniciales de validación de los protocolos de extracción secuencial mediante el empleo de materiales sólidos artificiales, como se puede comprobar en Nirel *et al.* (1986) y Kheboian y Bauer (1987). En un experimento típico de validación sobre materiales artificiales se prepara una fase sólida dopada con elementos traza, mezclándose después con otras fases desprovistas de dicho elemento traza. El material «modelo» constituido de este modo se pone en contacto con un reactivo escogido para extraer selectivamente la fase dopada, disolviendo de este modo los elementos traza asociados a dicha fracción. En experimentos de este tipo se ha observado frecuentemente que, contrariamente a lo que cabía esperar, la recuperación de elementos traza solubilizados tras el ataque a la fase dopada es muy baja, lo cual se atribuye a la readsorción de los elementos traza extraídos sobre otras fases del sólido resistentes al ataque (Tessier y Campbell, 1991).

La redistribución elemental depende tanto de las características de los metales traza como de la natu-

raleza metodológica de los procedimientos de extracción. Se ha observado que para algunos metales traza su influencia es aparentemente insignificante, mientras que en el caso de otros puede llegar a ser importante, como ocurre con el Pb (Raksasataya *et al.*, 1996).

Algunos trabajos importantes donde se evalúa la incidencia de la redistribución son los de Tipping *et al.* (1985), Kheboian y Bauer (1987), Dhoum y Evans (1988), Belzile *et al.* (1989) y Raksasataya *et al.* (1996). La redistribución elemental constituye un problema metodológico serio que se ha documentado en la mayor parte de los protocolos de extracción existentes, y es preciso llevar a cabo investigaciones encaminadas a desarrollar modificaciones en las condiciones de extracción que puedan emplearse para minimizar e incluso inhibir la actuación de este proceso. No obstante, es necesario extremar las precauciones a la hora de modificar los procedimientos de extracción para intentar paliar los efectos de la redistribución elemental, tal y como pusieron de manifiesto Tipping *et al.* (1985).

Condiciones experimentales y tratamiento previo de las muestras sólidas

En lo relativo a las condiciones experimentales bajo las que se llevan a cabo las metodologías secuenciales, las críticas se dirigen hacia aspectos tales como la intensidad física de algunos ataques (por ejemplo, en lo relativo a temperatura y pH de las soluciones; Panda *et al.*, 1995), que puede provocar la pérdida parcial de material sólido por su propulsión al exterior de los contenedores donde son expuestos a dicho ataque. Otro de los aspectos experimentales sometidos a valoración es la relación óptima entre el peso de la muestra sólida y el volumen de solución extractante a emplear (Sholkovitz, 1989; Förstner, 1993; Panda *et al.*, 1995). La utilización de un volumen excesivamente escaso de solución puede conducir a una extracción incompleta, mientras que su aplicación en exceso puede provocar problemas para el posterior ataque químico a causa de una dilución excesiva.

También se ha citado como fuente de errores la manipulación y lavado de las muestras sólidas entre una etapa de extracción y la siguiente, que puede provocar pérdida de material sólido (Breward *et al.*, 1996), de lo que se deduce que el grado de precisión del método aplicado disminuye conforme aumenta el número de etapas de extracción en el procedimiento.

El tratamiento y manipulación de las muestras sólidas con carácter previo a la realización de un experimento de extracción química, fundamental-

mente en relación con el secado y con las condiciones y el tiempo de almacenamiento de dichas muestras, también puede influir en la calidad de los resultados que se obtengan con posterioridad (Sholkovitz, 1989; Griepink, 1993; Rubio y Ure, 1993).

Otro aspecto importante y cuya omisión puede conducir a errores graves de interpretación es la caracterización mineralógica detallada de las muestras sólidas según distintas fracciones granulométricas. McCarty *et al.* (1998) observaron que los minerales de tamaño muy pequeño no aparecen reflejados en los difractogramas realizados sobre fracciones de muestra de granulometría relativamente gruesa. El desconocimiento de la existencia de estos minerales puede dificultar la correcta interpretación final de los resultados obtenidos, por lo que en muchas ocasiones es altamente recomendable realizar determinaciones mineralógicas por difracción de rayos X sobre fracciones de la muestra sólida de distintos tamaños.

Las fuentes de incertidumbre citadas en este apartado pueden reducirse en algunos casos, llegando en otros a anularse por completo mediante una ejecución experimental cuidadosa, minimizando así su posible incidencia en los resultados obtenidos y especialmente a la hora de dar un significado interpretativo correcto a dichos resultados.

Campos de aplicación en geología

Geoquímica ambiental de medios acuáticos superficiales

Los sedimentos de fondo de los sistemas acuáticos están constituidos por una mezcla sólida compleja que incluye fragmentos minerales procedentes de la meteorización de las rocas de la cuenca de drenaje, material biológico, sustancias orgánicas y, además, partículas formadas en el propio medio sedimentario, como por ejemplo óxidos y oxihidróxidos de hierro y manganeso. Los sedimentos de fondo pueden constituir un importante agente captador de elementos metálicos presentes en el medio hídrico, pudiendo tener lugar la acumulación a través de diversos procesos físicos, químicos o biológicos: adsorción superficial sobre partículas de diferente naturaleza; coprecipitación; decantación mecánica de partículas en suspensión; o bioacumulación por organismos.

La captación de elementos traza por parte de los sedimentos, al igual que su posible liberación al medio acuático, depende de varios factores: *a)* las propiedades de los elementos traza, entre las que se pueden citar la solubilidad, la reactividad frente a la formación de complejos y la capacidad de adsor-

ción; *b)* las características de las soluciones, como por ejemplo pH, Eh y concentración de ligandos en solución; *c)* las características de las superficies bióticas y abióticas presentes, como porosidad y capacidad de captación.

Es necesario valorar el potencial de los sedimentos en el ambiente acuático, ya sea como fuentes o como sumideros de metales y elementos traza en general (Thomas *et al.*, 1994), pero la determinación de la concentración total de metales pesados en los sedimentos no suministra información suficiente sobre la movilidad de los metales. La evaluación de la especiación mediante metodologías de extracción secuencial permite caracterizar la potencial movilidad y biodisponibilidad de los elementos traza presentes en los sedimentos, además de aportar información sobre los procesos que han actuado en la incorporación de los elementos traza al material sólido.

El procedimiento secuencial de Tessier fue desarrollado originalmente para su aplicación sobre material sólido presente en medios fluviales (sedimentos de fondo y partículas en suspensión), a partir de los procedimientos ya existentes para el análisis químico de suelos. De este modo trataron de caracterizar la asociación de elementos metálicos con determinadas fracciones del material, es decir, estudiar su especiación. Aparte de la utilidad meramente descriptiva de los métodos de extracción secuencial, el estudio de la especiación se ha encaminado progresivamente hacia aplicaciones de tipo ambiental. El propio equipo de Tessier empleó posteriormente el protocolo a sedimentos procedentes de ríos contaminados por actividad minera (Tessier *et al.*, 1980), así como a otras muestras recogidas entre los sedimentos de un lago afectado por contaminación industrial (Tessier *et al.*, 1989).

En las dos últimas décadas han sido abundantes los trabajos de investigación que han explorado esta utilidad práctica de las metodologías secuenciales, obteniéndose en ellos unos resultados muy valiosos. En lo relativo a sistemas fluviales, existen estudios de especiación en sedimentos de fondo de ríos afectados por contaminación, bien por la presencia en su cuenca de drenaje de labores mineras extractivas (Zhang y Zhao, 1996; McCarty *et al.*, 1998; Corsi y Landim, 2002), bien por encontrarse en zonas densamente pobladas o con una importante actividad industrial (López-Sánchez *et al.*, 1993; Thomas *et al.*, 1994; Zhang *et al.*, 1998). También han recibido atención los medios sedimentarios transicionales, existiendo estudios concretos sobre especiación en sedimentos de fondo de estuarios (Parkman *et al.*, 1996), de ensenadas (Alvarez-Iglesias *et al.*, 2001) y de ambientes tipo *lagoon* (Panda *et al.*, 1995). Los elementos traza analizados en todos estos estudios

pertenecen al grupo de los metales (generalmente Cd, Co, Cu, Cr, Ni, Pb y Zn), a excepción del trabajo de Zhang *et al.* (1998), en el que evaluaron la especiación de los elementos del grupo de las tierras raras.

La aplicación de este tipo de metodologías sobre sedimentos de sistemas acuáticos está especialmente indicada en el caso de áreas afectadas por cualquier tipo de contaminación antropogénica, ya sea por actividad minera, industrial o por concentración de población. Los sedimentos tienden a acumular los elementos traza liberados por la contaminación, y los estudios de especiación suministran una información muy valiosa sobre el modo de asociación de los elementos traza con determinadas fracciones de los sólidos. El conocimiento de estas pautas de distribución va a permitir evaluar el grado de contaminación de un sedimento y su potencial comportamiento ante eventuales cambios ambientales, y además ayudará a diseñar estrategias de restauración ambiental de los sedimentos contaminados.

Edafología

Existen estudios de especiación sobre muestras de suelos realizados con una finalidad meramente descriptiva, como por ejemplo los de Breward *et al.* (1996), MacGregor (1997) y Dumat *et al.* (2001). En determinados casos, los autores pretenden cubrir amplias zonas geográficas para establecer los valores de fondo regionales de metales traza en suelos, estableciendo así criterios que permitan valorar el grado de contaminación edáfica (González *et al.*, 2002).

Al igual que en el caso de los estudios sobre sedimentos de medios hídricos, los elementos traza analizados en estos trabajos sobre muestras de suelos son generalmente elementos metálicos como Cu, Cr, Co, Cd, Pb, Ni y Zn (Yong *et al.*, 1993; Orsini y Bermond, 1993; Breward *et al.*, 1996; Steinmann y Stille, 1997; McGrath, 1996; Dumat *et al.*, 2001). En otros trabajos se evalúa el comportamiento en medios edáficos de otros elementos traza, como por ejemplo U y As (Dhoum y Evans, 1998), Se (MacGregor, 1997), radionucleidos (Vidal y Rauret, 1993) o elementos del grupo de las tierras raras (Steinmann y Stille, 1997), que en el caso de radionucleidos y tierras raras se han visto impulsados por el estudio de análogos naturales de reservorios de residuos nucleares.

Existe además un amplio campo de aplicaciones prácticas donde la especiación se usa para conseguir resultados que de otro modo sería imposible obtener, al menos con las herramientas actualmente existentes. Por ejemplo, se han utilizado metodologías de extracción secuencial para evaluar la capacidad de un suelo como barrera geoquímica para la

retención de metales pesados (Yong *et al.*, 1993), como ayuda en el diseño de métodos de recuperación de suelos contaminados (Dhoum y Evans, 1998) y para valorar el grado de contaminación de suelos enmendados con lodos de depuración de aguas residuales (Legret, 1993).

El medio edáfico es un sistema geoquímico extremadamente sensible a los procesos de fijación y liberación de elementos traza en función de las variaciones fisicoquímicas, y además tiene una importancia capital para el desarrollo de la vida vegetal y animal y, por ende, de la vida humana. La utilización de protocolos de extracción secuencial sobre muestras edáficas está cobrando un auge progresivamente mayor, y por ello constituye un campo con una proyección futura muy importante para la aplicación de este tipo de metodologías.

Hidrología subterránea

La utilización de metodologías secuenciales en estudios de hidrología subterránea se encaminan a caracterizar la especiación en los materiales que constituyen un determinado acuífero, comparando las pautas de distribución de los elementos traza así obtenidas con los contenidos presentes en las aguas del sistema.

Los estudios que persiguen describir las reacciones que controlan la movilidad de los elementos traza en casos concretos de contaminación de aguas subterráneas analizan el comportamiento de metales traza como Co, Cu, Ni y Zn (Stollenwerk, 1994). Además, dado el uso rutinario de los elementos del grupo de las tierras raras como trazadores de procesos geoquímicos, está adquiriendo gran interés la evaluación del comportamiento de estos elementos traza en sistemas acuíferos, estudiándose con detalle sus pautas de especiación (Yan *et al.*, 1999) o bien analizando su respuesta frente a episodios de contaminación de acuíferos por aguas ácidas de drenaje de minas (Worrall y Pearson, 2001).

Perspectivas futuras y conclusiones

Del análisis crítico de la bibliografía consultada se observa claramente la existencia de dos vías de investigación dentro del campo de las extracciones químicas secuenciales. De una parte se encuentran los trabajos encaminados al desarrollo, perfeccionamiento y validación de esquemas metodológicos que puedan, en un momento determinado, ser aceptados por la comunidad científica como estándares para su utilización en investigaciones aplicadas. Por otra parte se encuentran los estudios en los que se

utilizan esquemas de extracción secuencial para casos concretos, dada la ausencia actual de otro tipo de procedimiento que sirva para determinar la especiación en muestras geológicas. Esta situación actual se va a mantener hasta que la primera de las vías de investigación presentada consiga obtener un resultado concreto, es decir, hasta que se establezca un protocolo estándar de extracción secuencial unánimemente aceptado. Hasta ese momento es esperable que los distintos equipos de investigación sigan empleando cualquiera de los esquemas existentes, bien en su forma actual o bien modificándolos en la medida de sus necesidades particulares.

En las publicaciones científicas de los últimos años se observa una evolución general de la investigación aplicada hacia campos relacionados estrechamente con los procesos de contaminación, bien estudiando la respuesta de determinados sistemas hídricos superficiales o subterráneos frente a episodios puntuales (como por ejemplo vertidos contaminantes o lluvia ácida) o bien diseñando estrategias de recuperación de medios contaminados, como es el caso de la restauración de suelos.

Otra área que promete un importante desarrollo en un futuro próximo es la que relaciona la geoquímica ambiental con la salud humana, sobre todo en su aplicación a estudios epidemiológicos en países en desarrollo (Plant *et al.*, 1996). Los esquemas de extracción secuencial permiten evaluar la biodisponibilidad de los elementos traza y su facilidad de incorporación a la cadena alimenticia, pudiendo determinarse de este modo una situación de potencial toxicidad en relación con determinados elementos, o incluso relacionar enfermedades concretas con la concentración de elementos traza específicos en fracciones fácilmente biodisponibles de los materiales regionales.

Como conclusiones de este trabajo se puede comentar que los esquemas de extracción secuencial se han aplicado por distintos grupos de investigación durante las dos últimas décadas y que, a pesar de la importancia de los problemas metodológicos actualmente existentes, es esperable que sigan siendo utilizados en campos de investigación relacionados fundamentalmente con procesos de contaminación ambiental. No obstante y en espera del establecimiento de un protocolo estándar, el empleo de este tipo de metodologías precisa actualmente de unas importantes precauciones tanto a la hora de escoger el esquema a utilizar como en la interpretación de los resultados obtenidos. Para ello es importante tener en consideración toda la problemática metodológica existente, distribuida de manera dispersa en la literatura científica sobre el tema pero que este trabajo intenta recopilar y describir, al menos en sus aspectos fundamentales.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado en parte gracias a la financiación del Proyecto CICYT BTE2000-1011, titulado «Procesos diagenéticos de alto grado en el Paleozoico inferior de la Rama Aragonesa de la Cordillera Ibérica». Los autores desean agradecer las sugerencias del revisor anónimo que ha llevado a cabo la evaluación del borrador original del presente trabajo, sobre todo en lo relativo a la aportación de bibliografía adicional.

Referencias

- Alvarez-Iglesias, P.; Rubio, B. y Vilas, F. (2001). Especiación de Pb, Zn y Fe en sedimentos intermareales de la ensenada de San Simón. *Geotemas*, 3, 53-57.
- Arrhenius, G. O. S. y Korkish, J. (1959). Uranium and thorium in marine minerals. *Inter. Oceanogr. Congr. 1st, Am. Assoc. Advan. Sci.*, Preprints, 497 pp.
- Belzile, N.; Lecomte, P. y Tessier, A. (1989). Testing readsorption of trace elements during partial chemical extraction of bottom sediments. *Environ. Sci. Technol.*, 23, 1015-1020.
- Breward, N.; Williams, M. y Bradley, D. (1996). Comparison of alternative extraction methods for determining particulate metal fractionation in carbonate-rich Mediterranean soils. *Applied Geochem.*, 11, 101-104.
- Cardoso Fonseca, E. y Martin, H. (1986). The Selective Extraction of Pb and Zn in Selected Mineral and Soil Samples, Application in Geochemical Exploration (Portugal). *J. Geochem. Explor.*, 26, 231-248.
- Chao, T. T. (1984). Use of partial dissolution techniques in geochemical exploration. *J. Geochem. Explor.*, 20, 101-135.
- Chester, R. y Hughes, M. J. (1967). A chemical technique for the separation of ferro-manganese minerals, carbonate minerals and adsorbed trace elements from pelagic sediments. *Chem. Geol.*, 2, 249-262.
- Corsi, A. C. y Landim, P. M. B. (2002). Fluvial transport of lead, zinc and copper contents in polluted mining regions. *Environ. Geol.*, 41, 833-841.
- Dhoom, R. T. y Evans, G. J. (1998). Evaluation of uranium and arsenic retention by soil from a low level radioactive waste management site using sequential extraction. *Applied Geochem.*, 13, 415-420.
- Dumat, C.; Chiquet, A.; Gooddy, D.; Aubry, E.; Morin, G.; Juillot, F. y Benedetti, M. F. (2001). Metal ion geochemistry in smelter impacted soils and soil solutions. *Bull. Soc. Géol. France*, 172, 539-548.
- Förstner, U. (1993). Metal speciation – General concepts and applications. *Inter. J. Anal. Chem.*, 51, 5-23.
- González, I.; Galán, E.; Romero, A. y Aparicio, P. (2002). Biodisponibilidad y especiación química y mineralógica de los elementos traza de los suelos de la provincia de Sevilla. *Bol. Soc. Española Miner.*, 25A, 43-44.
- Griepink, B. (1993). Some considerations with regard to the quality of results of analysis of trace element extractable contents in soil and sediment. *Inter. J. Anal. Chem.*, 51, 123-128.
- Hall, G. E. M.; Vaive, J. E.; Beer, R. y Hoashi, M. (1996). Selective leaches revisited, with emphasis on the amorphous Fe oxyhydroxide phase extraction. *J. Geochem. Explor.*, 56, 59-78.
- Hirst, D. M. y Nicholls, G. D. (1958). Techniques in sedimentary geochemistry. 1. Separation of the detrital

- and non-detrital fractions of limestones. *J. Sedim. Petrol.*, 28, 461-468.
- Hodgson, J. F. (1960). Cobalt reactions with montmorillonite. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 24, 165-168.
- Jones, K. C.; Peterson, P. J. y Davies, B. D. (1984). Extraction of silver from soils and its determination by atomic absorption spectrometry. *Geoderma*, 33, 157-158.
- Kersten, M. y Förstner, U. (1986). Chemical fractionation of heavy metals in anoxic estuarine and coastal sediments. *Water Sci. Technol.*, 18, 121-130.
- Kersten, M. y Förstner, U. (1989). Speciation of trace elements in sediments. In: G. Bailey (Ed.), *Trace Element Speciation. Analytical Methods and Problems*. CRC Press, pp. 245-317.
- Kheboian, C. y Bauer, C. F. (1987). Accuracy of Selective Extraction Procedures for Metal Speciation in Model Aquatic Sediments. *Analytical Chem.*, 59, 1417-1423.
- Koschinsky, A. y Halbach, P. (1995). Sequential leaching of marine ferromanganese precipitates: Genetic implications. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 59, 5113-5132.
- Legret, M. (1993). Speciation of heavy metals in sewage sludge and sludge-amended soil. *Inter. J. Environ. Anal. Chem.*, 51, 161-165.
- López-Sánchez, J. F.; Rubio, R. y Rauret, G. (1993). Comparison of two sequential extraction procedures for trace metal partitioning in sediments. *Inter. J. Environ. Anal. Chem.*, 51, 113-121.
- Lyle, M.; Heath, G. R. y Robbins, J. M. (1984). Transport and release of transition elements during early diagenesis. Sequential leaching of sediments from MANOP Sites M and H. Part I. pH 5 acetic acid leach. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 48, 1705-1715.
- MacGregor, R. A. (1997). *The geochemistry of selenium in sedimentary environments. Examples from the UK and Jordan*. Tesis Doctoral inédita, Universidad de Reading (U. K.).
- Martin, J. M.; Nirel, P. M. V. y Thomas, A. J. (1987). Sequential extraction techniques. promises and problems. *Mar. Chem.*, 313-341.
- McCarty, D. K.; Moore, J. N. y Marcus, W. A. (1998). Mineralogy and trace element association in an acid mine drainage iron oxide precipitate; comparison of selective extractions. *Applied Geochem.*, 13, 165-176.
- McGrath, D. (1996). Application of single and sequential extraction procedures to polluted and unpolluted soils. *Sci. Total Environ.*, 178, 37-44.
- Meguelliati, N. (1982). *Mise au point d'un schéma d'extraction sélective des polluants métalliques associés aux diverses phases constitutives du sédiment*. Tesis Doctoral inédita, Universidad de Pau (Francia).
- Murray, J. W. (1985). Mechanisms controlling the distribution of trace elements in oceans and lakes. In: R. A. Hites y S. J. Eisenreich (Eds.): *Sources and Fates of Aquatic Pollutants. Adv. Chem. Ser.*, 216, 153-184. Amer. Chem. Soc., Washington, D.C.
- Nirel, P. M. V. (1987). *Evolution de la distribution particulaire des éléments chimiques en milieu marin*. Tesis Doctoral inédita, Universidad de París VII (Francia).
- Nirel, P. M. V. y Morel, F. M. M. (1990). Pitfalls of sequential extractions. *Water Res.*, 24, 1055-1056.
- Nirel, P. M. V.; Thomas, A. J. y Martin, J. M. (1986). A critical evaluation of sequential extraction techniques. In: *Speciation of Fission and Activation Products in the Environment* (R. A. Bulman y J. R. Cooper, eds.). Elsevier, Londres.
- Orsini, L. y Bermond, A. (1993). Application of a sequential extraction procedure to calcareous soil samples: Preliminary studies. *Inter. J. Environ. Anal. Chem.*, 51, 97-108.
- Panda, D.; Subramanian, V. y Panigrahy, R. C. (1995). Geochemical fractionation of heavy metals in Chilka Lake (east coast of India) — A tropical coastal lagoon. *Environ. Geol.*, 26, 199-210.
- Parkman, R. H.; Curtis, C. D.; Vaughan, D. J. y Charnock, J. M. (1996). Metal fixation and mobilisation in the sediments of the Afon Goch estuary at Dulas Bay, Anglesey. *Applied Geochem.*, 11, 203-210.
- Pérez-Cid, B.; Lavilla, I. y Bendicho, C. (1996). Analytical assessment of two sequential extraction schemes for metal partitioning in sewage sludges. *Analyst*, 121, 1479-1484.
- Pickering, W. F. (1986). Metal ion speciation — Soils and sediments (a review). *Ore Geol. Reviews*, 1, 83-146.
- Plant, J. A.; Baldock, J. W. y Smith, B. (1996). The role of geochemistry in environmental and epidemiological studies in developing countries: a review. In: J.D. Appleton, R. Fuge y G.J.H. McCall (Eds.), *Environmental Geochemistry and Health*. Geological Society Special Publication nº 113, pp. 7-22.
- Raksasataya, M.; Langdon, A. G. y Kim, N. D. (1996). Assessment of the extent of lead redistribution during sequential extraction by two different methods. *Analyt. Chim. Acta*, 332, 1-14.
- Rauret, G.; López-Sánchez, J. F.; Sahuquillo, A.; Rubio, R.; Davidson, C.; Ure, A. y Quevauviller, P. (1999). Improvement of the BCR three step sequential extraction procedure prior to the certification of new sediment and soil reference materials. *J. Environ. Monit.*, 1, 57-61.
- Ray, S.; Gault, H. R. y Dodd, C. G. (1957). The separation of clay minerals from carbonate rocks. *Amer. Mineral.*, 42, 681-686.
- Rendell, P. S.; Batley, G. E. y Cameron, A. J. (1980). Adsorption as a control of metal concentration in sediment extracts. *Environ. Sci. Technol.*, 14, 314-318.
- Robinson, G. (1984). Sequential chemical extractions and metal partitioning in hydrous Mn-Fe-oxide coatings: Reagent choice and substrate composition affect results. *Chem. Geol.*, 47, 97-112.
- Rubio, R. y Ure, A.M. (1993). Approaches to sampling and sample pretreatments for metal speciation in soils and sediments. *Inter. J. Anal. Chem.*, 51, 205-217.
- Ryan, P. C.; Wall, A. J.; Hillier, S. y Clark, L. (2002). Insights into sequential chemical extraction procedures from quantitative XRD: a study of trace metal partitioning in sediments related to frog malformities. *Chem. Geol.*, 184, 337-357.
- Salomons, W. y Förstner, U. (1980). Trace metal analysis on polluted sediments. II. Evaluation of environmental impact. *Environ. Technol. Lett.*, 1, 506-517.
- Sholkovitz, E. R. (1989). Artifacts associated with the chemical leaching of sediments for rare-earth elements. *Chem. Geol.*, 77, 47-51.
- Steinmann, M. y Stille, P. (1997). Rare earth element behavior and Pb, Sr, Nd isotope systematics in a heavy metal contaminated soil. *Applied Geochem.*, 12, 607-623.
- Stollenwerk, K. G. (1994). Geochemical interactions between constituents in acidic groundwater and alluvium

- in an aquifer near Globe, Arizona. *Applied Geochem.*, 9, 353-369.
- Tessier, A. y Campbell, P. G. C. (1988) Partitioning of trace metals in sediments. In: J. Kramer y H. E. Allen (Eds.), *Metal speciation: theory, analysis and applications*. Lewis Publishers Inc. Chelsea, Mich. Pp. 183-200.
- Tessier, A. y Campbell, P. G. C. (1991). Comment on «Pitfalls of sequential extractions». *Water Res.*, 25, 115-117.
- Tessier, A.; Campbell, P. G. C. y Bisson, M. (1979). Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Analytical Chem.*, 51, 844-851.
- Tessier, A.; Campbell, P. G. C. y Bisson, M. (1980). Trace metal speciation in the Yamaska and St. François Rivers (Quebec). *Can. J. Earth Sci.*, 17, 90-105.
- Tessier, A.; Carignan, R.; Dubreuil, B. y Rapin, F. (1989). Partitioning of zinc between the water column and the oxic sediments in lakes. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 53, 1511-1522.
- Thomas, R. P.; Ure, A. M.; Davidson, C. M.; Littlejohn, D.; Rauret, G.; Rubio, R. y López-Sánchez, J. F. (1994). Three-stage sequential extraction procedure for the determination of metals in river sediments. *Analyt. Chim. Acta*, 286, 423-429.
- Tipping, E.; Hetherington, N. B.; Hilton, J.; Thompson, D. W.; Bowles, E. y Hamilton-Taylor, J. (1985). Artifacts in the Use of Selective Chemical Extraction to Determine Distributions of Metals between Oxides of Manganese and Iron. *Analytical Chem.*, 57, 1944-1946.
- Ure, A. M. (1995). Methods of analysis for heavy metals in soils. In: B. J. Alloway (Ed.), *Heavy Metals in Soils*, p. 58-102. Blackie Academic & Professional, 2ª edición.
- Vidal, M. y Rauret, G. (1993). Two approaches for sequential extraction of radionuclides in soils: Batch and column methods. *Inter. J. Environ. Anal. Chem.*, 51, 85-95.
- Viets, F. G. (1962). The chemistry and availability of micronutrients in soils. *J. Agr. Food Chem.*, 10, 174-178.
- Worrall, F. y Pearson, D. G. (2001). Water-rock interaction in an acidic mine discharge as indicated by rare earth element patterns. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 65, 3027-3040.
- Yan, X.-P.; Kerrich, R. y Hendry, M. J. (1999). Sequential leachates of multiple grain size fractions from a clay-rich till, Saskatchewan, Canada: implications for controls on the rare earth element geochemistry of porewaters in an aquitard. *Chem. Geol.*, 158, 53-79.
- Yong, R. N.; Galvez-Cloutier, R. y Phadungchewit, Y. (1993). Selective sequential extraction analysis of heavy-metal retention in soil. *Can. Geotech. J.*, 30, 834-847.
- Zhang, C.; Wang, L.; Zhang, S. y Li, X. (1998). Geochemistry of rare earth elements in the mainstream of the Yangtze River, China. *Applied Geochem.*, 13, 451-462.
- Zhang, L. y Zhao, G. (1996). The species and geochemical characteristics of heavy metals in the sediments of Kangjiayi River in the Shuikoushan Mine Area, China. *Applied Geochem.*, 11, 217-222.

Recibido el 29 de julio de 2002.
Aceptado el 16 de octubre de 2002.