Determinaciones analíticas en muestras de la zona no saturada
Investigación en Zona No Saturada, pp: 29 - 51
Ed. I. Morell. 1994

DETERMINACIONES ANALITICAS EN MUESTRAS DE LA ZONA NO SATURADA

Félix HERNANDEZ HERNANDEZ

Grupo de Investigación de Medio Ambiente y Recursos Naturales.
Departamento de Ciencias Experimentales. Universitat Jaume I, Castellón

INTRODUCCION

La zona no saturada (ZNS) constituye una barrera natural contra la contaminación de las aguas subterráneas gracias a su capacidad de atenuación del avance e intensidad del proceso contaminante en el acuífero. Durante su migración a través de la ZNS, las sustancias disueltas o en suspensión en el lixiviado están sometidas a una serie de procesos de diversa índole -intercambio iónico, adsorción, biodegradación, precipitación, etc- que condicionan su tiempo de tránsito y producen transformaciones en su composición química.

La evolución en el terreno de metales pesados, compuestos nitrogenados, microcontaminantes orgánicos y microorganismos patógenos es un proceso complejo, cuyo conocimiento resulta esencial para la formulación y puesta en práctica de estrategias preventivas y medidas correctoras. Para ello, es necesario conocer con exactitud las concentraciones de los diferentes compuestos de interés a lo largo de la ZNS, para poder, de este modo, interpretar los fenómenos que tienen lugar, así como los cambios de concentración en profundidad y la formación de posibles metabolitos.

Desde el punto de vista analítico, se pueden considerar dos tipos de muestras en la ZNS: agua intersticial y suelo(subsuelo). La obtención de resultados analíticos fiables requiere la aplicación de técnicas y métodos suficientemente contrastados, siendo más problemática la determinación de microcontaminantes orgánicos por los bajos niveles de concentración presentes en las muestras así como por la presencia de interferentes (fundamentalmente ácidos húmicos y pigmentos). Hoy en día, se deben aplicar diferentes técnicas instrumentales para abarcar el complejo campo del análisis de contaminantes, destacando las espectroscópicas (absorción atómica, emisión en plasma, UV-visible) y cromatográficas (cromatografía de gases y líquida).

Uno de los mayores problemas del análisis en ZNS está asociado con la toma de muestras, debido a la dificultad de obtener muestras representativas, por lo que éste debe ser el primer aspecto a resolver con el fin de que los análisis realizados tengan la utilidad requerida.

DETERMINACIONES ANALITICAS DE INTERES EN LA ZNS

Entre las determinaciones analíticas que pueden realizarse en la ZNS, pueden destacarse por su interés:

- pH y conductividad
- compuestos inorgánicos
  - aniones
  - cationes (metales)
- compuestos orgánicos (plaguicidas)

Las diferentes etapas del proceso analítico difieren, en gran medida, dependiendo del tipo de analito, de modo que es necesario agrupar las determinaciones según el compuesto analizado con el fin de realizar una aproximación generalizada al tema que nos ocupa.

TOMA DE MUESTRAS Y PREPARACION

La mejor forma de detectar los procesos de circulación de un determinado contaminante hacia la zona saturada es mediante el muestreo del agua que se infiltra, de modo que una de las fases más importantes en el estudio del movimiento de contaminantes en la ZNS es la fase de muestreo en el campo, que permita obtener la solución del suelo.

La toma de muestras de agua intersticial se puede efectuar de forma directa, mediante succión del fluido que se infiltra en el terreno usando captores a vacío provistos de cápsulas de porcelana porosa , o bien de forma indirecta, obteniendo el extracto del suelo usando ensayos destructivos.

La utilización de captores de succión es cómoda y sencilla, aunque presenta varias desventajas, como son la existencia de flujos preferenciales de los contaminantes, problemas de representatividad de la muestra, la posible colmatación de los poros de la cápsula, y problemas de adsorción de los analitos en la cerámica de las cápsulas. En efecto, la adsorción de los analitos puede llegar a constituir un grave problema. Este es un aspecto que ha sido tratado, en cierta medida, en el caso de aniones y algunos cationes, pero se dispone de pocos datos sobre el comportamiento de metales y, especialmente, plaguicidas en su paso a través de la cerámica de las cápsulas.

Se ha efectuado una comparación entre el uso de cápsulas de porcelana porosa y de PTFE en determinaciones de pH, calcio, magnesio, aluminio, sodio, potasio y amonio (Beier y Hansen, 1992). Los resultados obtenidos demuestran que no existe una diferencia sustancial entre ambos tipos de muestreadores, excepto cuando se analiza magnesio.

Por otro lado, se ha indicado que el paso del agua a través de la porcelana porosa puede dar lugar a una variación en la composición química de la muestra, tanto por la liberación de iones por parte de la cerámica, como por

fenómenos de adsorción-desorción de iones sobre la misma. Para eliminar la liberación de iones, que tiene lugar generalmente en cápsulas nuevas, es necesario efectuar un lavado con agua destilada. Los fenómenos de adsorción no parecen afectar a la concentración del ión nitrato, aunque se produce una adsorción apreciable del ión amonio (Bernhard y Schenck, 1986).

La liberación de iones (calcio, sodio, potasio, bicarbonato, fosfato) por parte de la cápsula ha sido descrita tambien por otros autores. Dicha liberación, que ocurre sobre todo en sus primeros usos, se puede eliminar casi por completo con un lavado de la cápsula con, al menos, 1 litro de agua destilada. Por otro lado, la cápsula puede llegar a adsorber cantidades importantes de fósforo y de amonio, mientras que el nitrato no queda retenido (Cheverry, 1983).

La obtención de agua intersticial a partir de muestras de suelo es la otra alternativa, para lo cual se requiere un sistema adecuado de perforación, siendo uno de los mayores problemas la obtención de muestras inalteradas. Se pueden utilizar diferentes tipos de tomamuestras (de pared delgada "hinca", de pistón, sonda helicoidal con tomamuestras), que son aptos para pequeñas profundidades. El agua intersticial del suelo se puede obtener por varios métodos, como la centrifugación, desplazamiento con líquidos inmiscibles, extracción con gases, compactación mecánica, lixiviado y dilución. Este último es el más utilizado para la extracción de los compuestos inorgánicos y orgánicos.

Para compuestos inorgánicos, la muestra inalterada de suelo se introduce en una estufa o se seca al aire, y se añade posteriormente agua destilada en una proporción conocida (generalmente, entre 1:1 y 1:5 dependiendo de la concentración esperada). Para compuestos orgánicos se puede efectuar un tratamiento similar, de modo que en los análisis posteriores se determina el contenido de compuesto orgánico presente en el agua intersticial.

En el análisis de compuestos inorgánicos, el mayor interés radica en conocer las concentraciones de los posibles contaminantes en el agua intersticial, por lo que, en principio, cualquiera de los dos metodos indicados anteriormente podría utilizarse para la obtención de muestras. En cuanto a compuestos orgánicos, se suele fectuar una extracción del suelo con disolventes orgánicos, analizándose de este modo tanto el contaminante presente en el agua intersticial como el adsorbido sobre el suelo.

El tratamiento de la muestra, su conservación y el tipo de material utilizado en el laboratorio depende de los análisis que se vayan a efectuar posteriormente. Sin embargo, pueden indicarse algunas normas generales:

- las muestras se deben conservar en el frigorífico, en oscuridad, y efectuar los análisis lo antes posible para evitar posibles procesos de degradación.
- los recipientes de plástico son recomendables cuando se van a analizar compuestos inorgánicos, mientras que para plaguicidas debe evitarse el uso de plástico, siendo preferible el vidrio

- los cationes metálicos se conservan mejor en botellas de plástico y acidificados a pH<2 con ácido nítrico, con el fin de minimizar la posible precipitación y la adsorción sobre las paredes del recipiente

- la actividad microbiológica puede ocasionar cambios en la relación de nitrato-nitrito-amoniaco, o reducir el sulfato a sulfuro, por lo que es conveniente efectuar estos análisis lo antes posible

En *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* se especifican las recomendaciones en cuanto a tratamiento de muestras de aguas previo al análisis.

ANALISIS DE COMPUESTOS INORGANICOS

Aniones

Los análisis más frecuentes en zona no saturada son los correspondientes a cloruro, nitrato y sulfato, como especies mayoritarias, y otros aniones como nitrito, bromuro o fosfato, que suelen encontrarse al nivel de trazas.

Para este tipo de análisis el material utilizado es de calidad "standard" en un laboratorio de análisis de aguas. Para la determinación de aniones se pueden aplicar diversas técnicas analíticas. Las más utilizadas son las volumetrías, la espectrofotometría ultravioleta-visible y la cromatografía iónica.

Volumetrías

Determinación de cloruros

El método de referencia para análisis de cloruros en aguas es una valoración con nitrato de plata, utilizando como indicador cromato potásico (volumetría de precipitación). Se trata de un procedimiento muy sencillo que proporciona buenos resultados y que no requiere instrumentación de ningún tipo.

Espectrofotometría ultravioleta - visible

Determinación de nitratos

El método de referencia es la determinación ultravioleta, en medio ácido, a 220 nm, que proporciona buenos resultados para aguas relativamente limpias sin altos contenidos en materia orgánica. Para corregir el efecto de la materia orgánica se debe efectuar otra lectura a 275 nm. Para calcular el nitrato se debe efectuar la lectura a 220 nm y restarle dos veces la lectura a 275 nm.

Otros métodos recomendados son:

- determinación por electrodo selectivo de nitrato

- método espectrofotométrico del salicilato sódico, midiendo a 415 nm

- método de la reducción con cadmio, determinando el nitrito formado por el método de la sulfanilamida. En este método se debe restar el nitrito de la muestra, que se analiza en una porción aparte. Es un método muy sensible, aplicable entre 0.04 y 4.4 ppm.

Determinación de sulfatos

Los métodos recomendados son la gravimetría y la determinación turbidimétrica (o nefelométrica). La gravimetría proporciona buenos resultados, pero es larga y laboriosa, por lo que cada vez se aplica menos.

Las determinaciones turbidimétrica y nefelométrica consisten en precipitar el sulfato con cloruro de bario, para dar $BaSO_4$, y estabilizar el precipitado con un tensioactivo (Tween 20, polivinil pirrolidina, goma arábiga), midiendo postriormente la turbidez producida, con un turbidímetro a 420-30 nm, o con un nefelómetro a 650 nm. Este el método más utilizado para análisis de sulfato en aguas.

Determinación de nitritos

El método de referencia es el del reactivo Zambelli. Consiste en la reacción con ácido sulfanílico, en presencia de amonio y fenol, y posterior medida del color desarrollado a 425-435 nm. Se trata de un método muy sensible.

Otro método recomendado es el de la sulfanilida o reacción de Griess. Se hace reaccionar la muestra con sulfanilida en medio ácido, posterior tratamiento con N-1-naftil-etilen-diamina y determinación espectrofotométrica del color desarrollado a 543 nm. Es más sensible que el anterior.

Los análisis de nitrito deben realizarse lo más rápidamente posible, para evitar la conversión bacteriológica en nitrato o amoniaco.

Determinación de bromuros

El método más utilizado consiste en una determinación espectrofotométrica, previa reacción del bromuro de la muestra con cloramina T, produciendose la oxidación hasta Br_2. El Br_2 formado reacciona con rojo de fenol para dar tetrabromofenol sulfonftaleina ,de color violeta. Se mide a 584-590 nm. Exactamente 20 min despues de añadir la cloramina T se debe añadir tiosulfato para decolorar la disolución, y, a continuación, medir la absorbancia. Se trata, por tanto, de un método en el que debe controlarse el tiempo cuidadosamente.

Determinación de fosfatos

El método de referencia es la determinación espectrofotométrica, previa reacción de los fosfatos con vanadato-molibdato amónico en medio ácido. Se forma ácido fosfomolíbdico que, en presencia de vanadio, da lugar al ácido vanadosofosfomolíbdico de color amarillo. Se mide a 400-490 nm.

Otro método utilizado es el del ácido ascórbico, consistente en la reacción con molibdato amónico, para dar ácido fosfomolíbdico, que se reduce posteriormente con ácido ascórbico, con lo cual se desarrolla un color azul que se mide a 690 nm. Este método es más sensible que el anterior y se prefiere para la determinación de bajas concentraciones de fosfato (del orden de 10 ppb).

Cromatografía iónica

La aplicación más importante de esta técnica se encuentra en la determinación de aniones. Presenta la ventaja de que se puede efectuar una determinación múltiple sin apenas tratamiento de la muestra. Tan sólo se requiere el paso de la muestra de agua (basta con unos pocos ml) a través de un cartucho tipo "Sep-Pak C18" para la eliminación de la materia orgánica, y una filtración, a través de 0.45 um o 0.22 um, para la eliminación de partículas sólidas que pueden dañar el sistema cromatográfico.

Para el análisis de aniones mayoritarios (cloruro, nitrato y sulfato) se requiere, generalmente, una dilución previa de la muestra entre 10 y 50 veces.

La CI con supresión química de la conductividad es el sistema usado por Dionex y es el método recomendado en STANDARD METHODS (1989). En ella, se usa una columna supresora de intercambio catiónico capaz de intercambiar iones Na^+ por H^+. Los aniones ya separados se convierten en sus formas ácidas, fuertemente conductoras, y el eluyente carbonato-bicarbonato en ácido carbónico, débilmente conductor.

La CI de columna simple, también conocida como CI de supresión electrónica o CI sin supresión, usa un sistema de compensación electrónica de la conductividad de fondo del eluyente, en lugar de la supresión química. Es el sistema usado por Waters-Millipore, y es el método EPA A-1000.

Ambos métodos permiten el análisis simultáneo de aniones mayoritarios en el agua. En la figura se muestra un cromatograma típico obtenido aplicando el método de la EPA.

Para la determinación de aniones minoritarios, como Br^- o NO_2^-, se requieren generalmente métodos específicos, ya que su determinación conjunta con los aniones mayoritarios resulta muy problemática. En estos casos, suele utilizarse un detector ultravioleta en lugar del de conductividad.

Cationes

En este apartado se considera la determinación de los cationes mayoritarios calcio, magnesio, sodio y potasio, así como del amonio.

Varias técnicas analíticas son de aplicación en este campo, fundamentalmente las volumetrías, la espectrofotometría de absorción atómica y la espectrofotometría ultravioleta-visible

Volumetrías

Para el análisis de calcio y magnesio puede utilizarse un método muy sencillo consistente en una valoración complexométrica con EDTA.

Para la determinación de la dureza total del agua (Ca + Mg), se efectúa una valoración con EDTA, en medio tamponado amonio/amoniaco (pH=10), usando negro de eriocromo T (NET) como indicador. El cambio de color se produce desde rojo vinoso hasta azul, y el volumen de EDTA gastado permite calcular la concentración de calcio más magnesio en la muestra.

Para la determinación de calcio, se efectúa una valoración con EDTA, a pH=12, usando como indicar la murexida. El cambio de color se produce de rojo a azul, y el volumen gastado de EDTA permite conocer la concentración de calcio en la muestra. Tambien puede usarse como indicador el calcón.

Espectrofotometría de absorción atómica

Esta técnica es muy adecuada para el análisis de cationes en disolución, pudiendo determinarse un gran número de especies metálicas en un amplio rango de concentraciones. Puede aplicarse en su modalidad de llama (para altas concentraciones), cámara de grafito (para bajas concentraciones), técnica de vapor frío (para análisis de mercurio) o generación de hidruros (para el análisis de arsénico, selenio, estaño, antimonio).

Los análisis se puede efectuar con gran rapidez cuando se realizan por llama. Para cada especie analizada se requiere una lámpara específica, por lo que es necesario disponer de un amplio juego de lámparas si se quiere abarcar el análisis de varios cationes.

La determinación de Ca, Mg, Na y K se efectúa con llama aire-acetileno. Para evitar interferencias en la determinación de Ca y Mg se requiere la adición de lantano a patrones y muestras. En el análisis de Na y K, se debe añadir un supresor de ionización, generalmente potasio o cesio para la determinación de sodio, y cesio o lantano para la determinación de potasio.

Generalmente, para la determinación de Ca y Na es necesaria la dilución previa de la muestra de agua, con el fin de que las medidas se realicen dentro del rango de linealidad del procedimiento.

El análisis de sodio y potasio tambien se puede realizar de forma adecuada mediante fotometría de llama (emisión), técnica relacionada con la absorción atómica. Para ello, puede utilizarse un sencillo fotómetro de llama, o también un espectrofotómetro de absorción atómica trabajando en el modo emisión en llama.

Espectrofotometría ultravioleta-visible

La determinación de amonio se suele llevar a cabo por espectrofotometría UV-VIS. El método más frecuente se basa en la reacción del amonio de la muestra con el reactivo Nessler para dar un complejo cuyo color se mide a 410 nm.

Este método se puede aplicar con o sin destilación previa. En general, el método sin destilación se aplica para muestras de aguas relativamente "limpias", poco contaminadas. En estos casos, es necesario un pretratamiento de la muestra con $ZnSO_4$ y NaOH para que precipiten Ca, Mg, Fe y sulfuro, que originan una turbidez cuando se tratan con el reactivo de Nessler. El límite de detección es de 0.02 ppm.

Otro procedimiento se basa en la reacción entre los iones amonio con hipoclorito sódico y fenol, para dar azul de indofenol, midiendo el color formado a 640 nm. Este método es más sensible que el anterior, con un límite de detección de 0.002 ppm.

Metales

La toma de muestras de agua intersticial para la determinación de trazas de metales es problemática. La utilización de captores de succión con cápsulas de porcelana presenta el grave inconveniente de que se produce una fuerte adsorción del metal sobre la porcelana. En nuestros laboratorios se han efectuado experiencias con diversos metales a diferentes concentraciones que demuestran lo anteriormente indicado. Así mismo, se produce una liberación de metales por parte de la cápsula, especialmente de Pb, por lo que es necesario un lavado durante varios días con agua destilada para evitar la contaminación de las muestras.

En la figura 1 se muestran los resultados obtenidos en experiencias de laboratorio, haciendo pasar agua fortificada con metales (Cd, Cr, Mn, Pb, Zn) a través de las cápsulas, durante 3 días, aplicando vacío. Puede observarse que la adsorción en la disolución exterior de la cápsula no es importante, tal como demuestran las recuperaciones próximas al 100%. Sin embargo, se produce una fuerte adsorción sobre la cerámica al pasar la muestra de agua al interior del captor, con pérdidas que, en la mayoría de los casos, son superiores al 60%.

Por ello, este sistema de muestreo de la disolución intersticial no resulta adecuado para el análisis de metales en la zona no saturada. Sería preferible, por tanto, la obtención del agua intersticial a partir de muestras de suelos, mediante dilución con agua.

También se pueden llevar a cabo análisis de metales directamente en las muestras de suelo y subsuelo, aplicando técnicas de extracción selectiva. Generalmente, se suele utilizar un único extractante, con el fin de obtener la fracción extraíble y conocer la cantidad de metal (o sus especies) biodisponible en la misma. Con ello, se puede predecir la posible deficiencia o toxicidad de los metales, por ejemplo, para las cosechas o animales que se alimentan de ellas.
Existen numeros procesos de extracción simple, pudiendo destacarse aquellos que utilizan EDTA 0.05M o DTPA 0.005M; acetato amónico 1M a pH=7; cloruro cálcico 0.01M; ácido acético 0.43 M; nitrato sódico 0.1M o nitrato amónico 1M. Como puede observarse existen numerosas posibilidades, existiendo, en general, una falta de uniformidad en los criterios al aplicar los distintos métodos, por lo que los resultados de diferentes

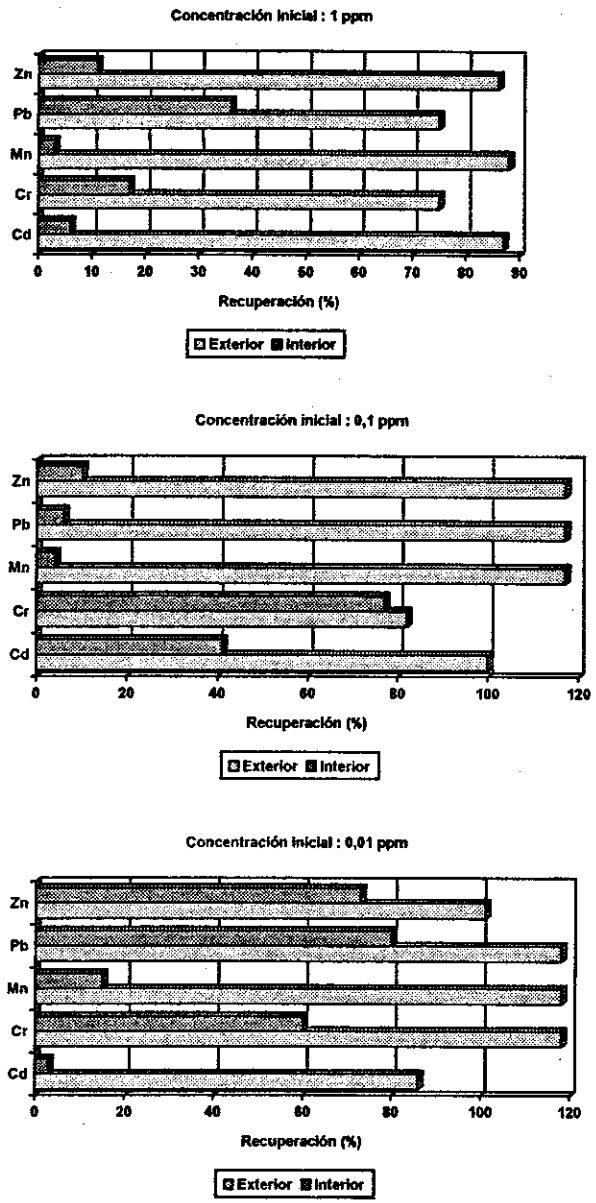

Figura 1. *Adsorción de metales sobre cápsulas de porcelana porosa*

autores son difícilmente comparables. Por ello, el Community Bureau of Reference (BCR) ha coordinado un proyecto con el fin de elaborar un suelo de referencia para certificar los contenidos de metal extraíble para Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn. Los extractantes utilizados han sido tres: EDTA 0.05M, ácido acético 0.43M y acetato amónico 1M a pH=7. Los resultados indican que los dos primeros extractantes proporcionan buenos resultados y resultan adecuados para realizar la certificación. Sin embargo, en el caso del acetato amónico, únicamente el Cd muestra una precisión aceptable, por lo que se desecha el método.

La determinación de metales se puede llevar a cabo por diferentes técnicas analíticas. Las más utilizadas son, sin duda, la *Espectrofotometría de Absorción Atómica* (EAA) y la *Espectrometría de Emisión por Plasma* (ICP) en la modalidad de plasma acoplado por inducción.También se pueden aplicar métodos colorimétricos, aunque éstos presentan, en general, peor precisión, selectividad y sensibilidad que los anteriores. Otras técnicas instrumentales, como la polarografía, se utilizan con menos frecuencia.

Los métodos de EAA incluyen la llama y la atomización electrotérmica (cámara de grafito), como técnicas más importantes. Los métodos de llama se aplican para niveles de concentración apreciables, tanto en muestra de matriz sencilla como compleja. La cámara de grafito (HGA) permite aumentar la sensibilidad de forma notable y es una técnica muy adecuada para la determinación de bajos niveles de metales en muestras de matriz no muy compleja, ya que los efectos interferentes se acentúan en esta técnica. Algunos efectos de matriz se pueden compensar con el uso de modificadores de matriz, muy extendido en HGA.

El ICP es aplicable para un amplio rango de concentraciones y es una técnica especialmente sensible para la determinación de elementos refractarios, aunque, en general, los límites de detección son más altos que en HGA. Presenta la ventaja de que se pueden efectuar determinaciones simultáneas, por lo que se consigue una gran rapidez en los análisis.

Los métodos colorimétricos se aplican generalmente cuando no se dispone de las técnicas anteriores, como una posible alternativa a las mismas.

Precauciones en el análisis de trazas de metales

En el análisis de trazas de metales deben extremarse las precauciones para evitar contaminaciones a lo largo del proceso analítico. Algunos metales, como Pb, Zn, Cd, Hg, etc se pueden encontrar fácilmente en laboratorios contaminados.

El material de laboratorio debe tratarse adecuadamente y, preferiblemente, será de teflón o plástico. El método recomendado para la limpieza de material consiste en efectuar un primer lavado con detergente; enjuagado repetido con agua del grifo; mantenerlo durante varias horas en HNO_3 1:1 (o también HCl 1:1); enjuagado final con agua ultrapura.

El agua utilizada en el laboratorio debe estar libre de metales (lo mejor es usar un sistema de obtención de agua ultrapura tipo Millipore) y los reactivos deben de ser de calidad adecuada para el análisis de trazas de metales.

Así mismo, el laboratorio debería utilizarse exclusivamente para el análisis de trazas de metales, evitando una atmósfera contaminada en el mismo.

Las muestras se deben preservar inmediatamente después del muestreo, acidificándolas con HNO_3 conc. hasta pH<2. Generalmente, suele ser suficiente añadir 1.5 ml de ácido nítrico por litro de agua (0.15% HNO_3).

Una vez acidificadas, las muestras se deben conservar a 4ºC en frigorífico. Para concentraciones de metales del orden de ppm, las muestras así conservadas son estables hasta unos 6 meses (a excepción del Hg, cuyo límite es, aproximadamente, 1 mes). Cuando los niveles de concentración son del orden de ppb (mg/l), se deben efectuar los análisis lo antes posible.

Para muestras de matriz desconocida, se debería usar el método de adiciones standard para comprobar si está libre de interferencias antes de proceder a la calibración con patrones externos. Para comprobar que no existen interferencias, también se pueden analizar dichas muestras sin diluir y diluidas 10 veces. Los resultados obtenidos deberían ser comparables.

Tratamiento previo de las muestras

En términos generales, en el análisis de metales en aguas se pueden distinguir diferentes fracciones:

a) Metales disueltos: son aquellos metales presentes en una muestra de agua sin acidificar y que han pasado a través de un filtro de tamaño de poro 0.45 um

b) Metales en suspensión: son aquellos metales de una muestra sin acidificar que quedan retenidos al filtrar sobre 0.45 um

c) Metales totales: son los obtenidos al analizar una muestra de agua sin filtrar, después de una digestión vigorosa; o bién la suma de concentraciones de metales obtenida en la fracción disuelta y en la fracción en suspensión. Incluyen todos los metales, tanto en forma inorgánica como los enlazados a compuestos orgánicos.

Las muestras incoloras y transparentes se pueden analizar directamente por EAA o ICP, obteniéndose así los metales totales sin necesidad de efectuar una digestión. Para este tipo de muestras, se recomienda acidificar con HNO_3 a pH<2 en el mismo momento de la toma de muestra y efectuar los análisis directamente.

Sin embargo, las muestras que contienen partículas sólidas o materias orgánicas apreciables requieren, generalmente, un tratamiento previo antes de los análisis, siendo recomendable efectuar una digestión para analizar los metales totales, o bien analizar separadamente los metales disueltos y en suspensión y obtener la suma.

Para el análisis de metales disueltos se debe filtrar la muestra, acidificar el filtrado, y efectuar los análisis posteriormente.

Para el análisis de metales en suspensión se filtra la muestra, se pone el filtro en digestión, y se realizan los análisis.

Las técnicas de digestión para el análisis de metales totales se aplican con el fin de reducir la interferencia de la materia orgánica y convertir al metal asociado a partículas sólidas en una forma (generalmente, ión libre) que se pueda determinar por la técnica instrumental aplicada (EAA, ICP, etc). La digestión con ácido nítrico es la más utilizada, ya que es eficaz para la mayoría de las muestras y, además, el nitrato es una matriz aceptable tanto en EAA con llama como en HGA. Para algunas muestras es necesario añadir, además, otros ácidos como $HClO_4$, HCl o H_2SO_4 para completar la digestión.

ANALISIS DE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS

La presencia de plaguicidas en aguas subterráneas es una consecuencia de su utilización como productos fitosanitarios en la agricultura. La escasez de datos sobre contenidos de plaguicidas en aguas es, sin duda, debida a la extraordinaria dificultad para la identificación y cuantificación de estos compuestos y de los productos de degradación originados a lo largo de su tránsito por la zona no saturada, así como en el agua subterránea. El elevado precio de los análisis, así como el grado de especialización requerido para llevarlos a cabo, es una causa añadida a la mencionada anteriormente.

El movimiento de los plaguicidas hacia el agua subterránea es un fenómeno complejo en el que influyen numerosos factores, y que se ve afectado, en gran medida, tanto por la capa edáfica (en la que existe una gran actividad biológica) como por la zona no saturada (ZNS), en la que tienen lugar una serie de procesos como la lixiviación, adsorción ,etc.

Los procesos que afectan al transporte de los plaguicidas a través de la ZNS se pueden resumir como: adsorción/desorción, degradación, volatilización, arrastre por escorrentía superficial y absorción por las plantas. En la Figura 2 se resumen los factores que influyen en el transporte de los plaguicidas, desde el momento de su aplicación hasta su afección al agua subterránea. Como puede observarse, se trata de un fenómeno complejo en el que influyen numerosas variables. Cabe destacar que la adsorción del plaguicida por el suelo y subsuelo es, probablemente, el factor más importante y principal responsable de la retención del plaguicida, impidiendo la contaminación del agua subterránea. La adsorción se produce en mayor extensión en plaguicidas organoclorados, de modo que la contaminación de aguas subterráneas por este tipo de compuestos es más difícil. Las características de la ZNS, fundamentalmente, su textura y el contenido de materia orgánica, también influyen decisivamente en la posible retención y/o transformación de los plaguicidas.

En el análisis de residuos de plaguicidas (ARP) se deben efectuar una serie de etapas previas a la determinación analítica cuya finalidad es preparar la muestra de forma adecuada para favorecer la determinación del analito. Estas etapas son muy importantes, ya que de ellas depende, en gran parte, el éxito de los análisis. A continuación, se consideran las diferentes etapas en análisis de residuos de plaguicidas.

Relacionados con el plaguicida
- Propiedades químicas: estructura, solubilidad, volatilidad
- Método de aplicación: formulación, dosis, modo de aplicación
- Persistencia: posibilidades de degradación, formación de metabolitos

Relacionados con el suelo
- Características del suelo: tipo y cantidad de materia orgánica, arcillas y materiales amorfos, pH, estructura, permeabilidad
- Condiciones del suelo: humedad, aireación, contenido en nutrientes, actividad microbiológica, heterogeneidad, nivel piezométrico del agua
- Condiciones del terreno: topografía, pendiente, longitud, drenaje

Relacionados con la planta
- Características de la especie
- Estado de crecimiento
- Tipo de raíces

Factores medio ambientales
- Temperatura
- Precipitaciones
- Vientos
- Radiación solar

Figura 2. *Factores que influyen en el comportamiento de los plaguicidas en la zona no saturada*

Toma de muestras y preparación

Los niveles de concentración de plaguicidas en aguas son, generalmente, próximos a los límites de determinación de los métodos analíticos más sensibles utilizados hoy en día. Por ello, las pérdidas de analito o la contaminación de las muestras, que pueden tener lugar a lo largo de todo el proceso de análisis, adquieren especial relevancia, por lo que deben extremarse las precauciones para evitar estos efectos indeseables.

Por ejemplo, si el material utilizado para la toma de muestras y para su transporte hasta el laboratorio no es el adecuado pueden tener lugar pérdidas por adsorción sobre las paredes del recipiente, o contaminaciones con sustancias interferentes. En general, son más aconsejables los recipientes de vidrio, provistos con tapón esmerilado. No es aconsejable el uso de material de plástico pues puede adsorber cantidades importantes de plaguicidas además de contaminar las muestras con trazas de compuestos orgánicos (p.e. plastificantes) que producen interferencias en la posterior determinación por cromatografía de gases, especialmente si se usa el detector de captura de electrones.

Los análisis de residuos de plaguicidas en la ZNS se pueden llevar a cabo sobre el agua intersticial (usando captores de succión con cápsulas de porcelana, o bien a partir de muestras de suelo por dilución de la muestra con agua), y también en muestras de suelo y subsuelo.

Conviene resaltar los problemas asociados al uso de cápsulas de porcelana porosa para la toma de muestras. En experiencias realizadas en

nuestro grupo de trabajo, se ha demostrado que existe una fuerte adsorción de los plaguicidas organoclorados en su paso a través de la cápsula, tal como se muestra en la Figura 3, con recuperaciones del 48 (lindano), 32 (dicofol), 29 (clorfenson) y 13% (tetradifon). En los plaguicidas organofosforados estudiados, la adsorción es mucho menos importante, por lo que este sistema de muestreo podría resultar adecuado para el análisis de organofosforados, pero no así para los organoclorados. En cualquier caso, se debería tener en cuenta el comportamiento de los plaguicidas seleccionados sobre las cápsulas porosas si se pretende usar este sistema de muestreo.

La preparación de las muestras de agua (en la mayor parte de los casos consiste en una extracción líquido-líquido), así como la de suelos debe realizarse inmediatamente después de la llegada al laboratorio. Este es un aspecto de gran importancia en ARP.

Si no fuera posible extraer las muestras de agua inmediatamente, se recomienda su almacenamiento en frigorífico o, preferiblemente, en congelador a -25 °C para evitar la hidrólisis (p.e. en compuestos organofosforados) u otros cambios en los plaguicidas.

Los problemas originados en la conservación de la muestra se pueden evitar con el aislamiento inmediato de los plaguicidas por extracción en fase sólida, como se verá más adelante.

Extracción de plaguicidas

La mayoría de los métodos analíticos en ARP aplican una primera etapa que consiste en la extracción de los plaguicidas presentes en la muestra. Este proceso se lleva a cabo, generalmente, mediante disolventes orgánicos en los que sean solubles los compuestos a analizar.

Los disolventes hidrofílicos deben usarse para la extracción de plaguicidas polares, mientras que los disolventes lipofílicos son más aconsejables para los plaguicidas apolares. La polaridad del plaguicida y del disolvente extractante es, por tanto, uno de los parámetros de mayor importancia a la hora de elegir un determinado sistema, ya que influye en la solubilidad del plaguicida en el disolvente. Otro factor de interés en la elección de un disolvente extractante es su facilidad para ser evaporado. Generalmente, se prefieren disolventes fácilmente volátiles pues se pierde menos tiempo en la evaporación y hay menos peligro de pérdidas de plaguicidas al poder trabajar a temperaturas más bajas.

Antes de pasar a considerar los diversos sistemas de extracción de plaguicidas conviene indicar que no existe ningún procedimiento ni disolvente universal capaz de extraer todos los plaguicidas. Los métodos de extracción existentes se pueden aplicar a un grupo determinado de plaguicidas, generalmente, de composición y polaridad semejante (métodos multi-residuales).

Los procedimientos para la extracción de plaguicidas en muestras acuosas incluyen la extracción líquido-líquido (también llamada extracción con disolventes) y la adsorción sobre un soporte sólido seguida de elución con un disolvente orgánico (también llamada extracción en fase sólida).

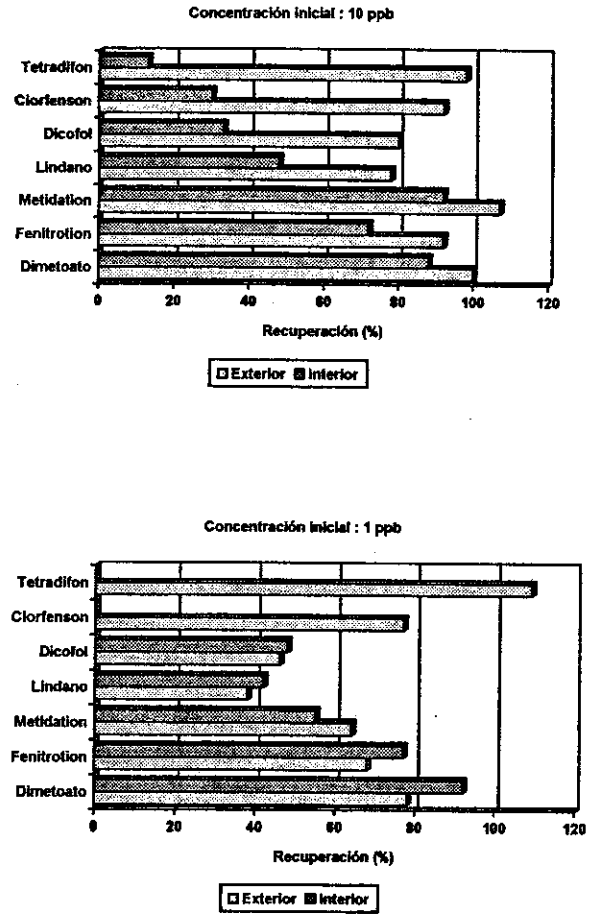

Figura 3. *Adsorción de plaguicidas sobre cápsulas de porcelana porosa de captores de succión*

Extracción líquido-líquido (ELL)

En este procedimiento, la muestra de agua conteniendo los plaguicidas se coloca en un embudo de decantación y se extrae con un disolvente orgánico inmiscible con el agua. En este proceso, los plaguicidas se reparten entre las dos fases, y el objetivo es que la práctica totalidad de los mismos pasen a la fase orgánica, para proceder posteriormente a su determinación.

Existen dos disolventes ampliamente utilizados para la extración de plaguicidas en aguas: hexano y diclorometano. La extracción con diclorometano se puede usar para la determinación de plaguicidas organofosforados (OP), organonitrogenados (ON) y N-metilcarbamatos. También es eficaz para organoclorados (OC) y triazinas. La extracción con hexano o mezclas hexano-éter etílico, o hexano-diclorometano, se suele usar para la determinación de plaguicidas OC, PCBs y piretroides en aguas.

Extracción en fase sólida (EFS)

Una alternativa a la extracción con disolventes es la recuperación del plaguicida haciendo pasar la muestra de agua a través de un cartucho conteniendo un adsorbente sólido. La posterior desorción del plaguicida puede efectuarse por elución con un disolvente adecuado o mezcla de disolventes, o bien aumentando la temperatura (desorción térmica). Estos procedimientos se conocen como extracción en fase sólida (EFS), aunque tambien se usan otros nombres tales como adsorción líquido-sólido, extracción líquido-sólido o extracción con adsorbentes.

La relación entre el volumen de agua pasado y el disolvente usado para la elución proporciona el factor de concentración que tiene lugar en el proceso de EFS. Además, la composición del extracto orgánico que resulta después de la elución es más sencilla que la de la muestra de agua original, con lo que las posibles interferencias disminuyen.

Los adsorbentes más utilizados son las sílices enlazadas (bonded silica), que se preparan haciendo reaccionar los grupos funcionales de la sílice (grupos silanol, SiOH) con diferentes organoclorosilanos para formar una fase enlazada covalentemente (bonded-phase). El compuesto resultante puede tener carácter no polar (extracción en fase reversa), polar (extracción en fase normal) o tambien de intercambiador iónico (extracción en fase reversa, por formación de pares iónicos).

La EFS en fase reversa es la más usada para la extracción de plaguicidas, en donde los adsorbentes usados exhiben carácter no polar. Los más conocidos son los que tienen un grupo octadecil (C_{18}) enlazado a los grupos silanol de la sílice, así como los que tienen un grupo octil (C_8).

Debido a que las sílices enlazadas retienen una amplia variedad de compuestos orgánicos, pueden utilizarse como una alternativa a los métodos estandarizados de ELL. Si bien, es necesario comprobar rigurosamente el comportamiento de cada plaguicida mediante ensayos de recuperación.

En cuanto a la metodología utilizada en procedimientos de EFS, las dos etapas más críticas son la aplicación de la muestra (retención) y la elución de

los plaguicidas (desorción). Wells y Michael (1987) han propuesto un procedimiento con el fin de optimizar un proceso de EFS reversa aplicado al análisis de plaguicidas en aguas. Consiste en mantener constante la retención, en primer lugar, y optimizar el proceso de elución. Una vez optimizada la elución, se estudian y optimizan las variables que afectan a la retención. Este procedimiento se resume en la Figura 4.

1.	Activación del adsorbente (*mojado*)
2.	Acondicionamiento
	Eliminación del exceso de disolvente usado para la activación
3.	Aplicación de la muestra
4.	Eliminación de interferencias (*Clean-up*) y eliminación del agua
5.	Elución de los analitos adsorbidos (*desorción*)
6.	Regeneración de la columna

Figura 4. *Metodología en Extracción en fase sólida*

Las principales ventajas de la EFS, comparada con la ELL, radican en su bajo coste, sencillez, posibilidad de efectuar la extracción "in situ" (con lo que se evita el transporte de botellas y muestras de agua al laboratorio) y el ahorro de disolventes orgánicos (lo cual es ventajoso desde el punto de vista económico y de preservación del medio ambiente).

La extracción de plaguicidas en muestras de suelos se suele llevar a cabo con un disolvente orgánico, aunque también se utilizan mezclas de disolventes. Metanol, acetona y diclorometano son disolventes típicos, con una buena capacidad para extraer plaguicidas con un amplio rango de polaridades.

Los sistemas de extracción abarcan desde procedimientos poco agresivos, como la agitación, hasta otros más agresivos, en frío como el "blending" o trituración, o en caliente como el reflujo y la extracción con soxhlet. Otro procedimientos muy utilizado es la extracción mediante ultrasonidos.

Al igual que ocurre con las aguas, no existe ningún sistema de extracción ni disolvente universal. El procedimiento a aplicar depende del tipo de plaguicida analizado y del disolvente escogido y, en cada caso, se debe estudiar su recuperación y optimizarlo.

Purificación (Clean-up)

El clean up, también conocido como purificación o aislamiento, consiste en la eliminación de los constituyentes de la muestra que interfieren en el análisis del plaguicida de interés. Esta etapa es una de las más importantes en ARP, ya que después de la extracción inicial, junto con los plaguicidas, se encuentran otros compuestos interferentes o especies coextraídas que es necesario eliminar. Estos materiales interferentes pueden comprender compuestos como aminas, fenoles, ácidos húmicos, azúcares, grasas vegetales y animales, clorofila y otros materiales coloreados.

Para la eliminación de los compuestos interferentes se puede aplicar una partición líquido-líquido (el plaguicida aparecerá en una de las fases y los interferentes en la otra, la cual puede entonces desecharse) o, más frecuentemente, una cromatografía líquida preparativa.

La técnica más usada con fines de purificación en ARP en aguas y suelos es la cromatografía de adsorción, en la que la fase estacionaria es un material sólido adsorbente, mientras que la fase móvil es un disolvente o mezcla de disolventes. La separación de los distintos compuestos de la muestra se basa en su diferente adsorción sobre la superficie del adsorbente, y ello depende, fundamentalmente, de la polaridad de dichos compuestos.

Los materiales adsorbentes más utilizados con fines de clean-up son la silicagel, alúmina y Florisil.

Determinación analítica

La determinación analítica de los plaguicidas se lleva a cabo, generalmente, por técnicas cromatográficas, siendo la cromatografía de gases (GC) y la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) las más utilizadas.

Cromatografía de gases

La cromatografía de gases (GC) es la técnica más usada para la determinación de residuos de plaguicidas. Las ventajas que presenta, como alta sensibilidad, detección selectiva, elevada eficiencia en la separación, versatilidad, pequeño tamaño de muestra para efectuar el análisis y sencillez, son ampliamente reconocidas por toda la comunidad científica. Ninguna otra técnica analítica puede conseguir un poder de separación y sensibilidad equivalente para compuestos orgánicos volátiles. Sin embargo, para efectuar correctamente la separación es necesaria una optimización de las condiciones para lo que se requiere personal altamente cualificado.

Para que una muestra sea adecuada para el análisis por GC se requiere que sea térmicamente estable (bien la muestra o bien algún derivado de la misma obtenido previamente por derivatización) a la temperatura necesaria para su volatilización.

En la actualidad, se utilizan generalmente columnas capilares de sílice fundida, de gran flexibilidad. Las fases estacionarias líquidas utilizadas en columnas capilares son similares a las empleadas en empacadas, siendo los polisiloxanos los de mayor uso. La polaridad de la f.e. es el factor que más influye sobre la separación, pudiendo encontrarse columnas con f.e. de polaridades muy diversas con un amplio rango de aplicaciones.

En cuanto a los detectores, cabe señalar que no existe ninguno que cumpla todos los requisitos necesarios para el análisis de residuos de plaguicidas,y, en general, se requieren 2 o más detectores para cubrir las necesidades básicas en este campo.

Cuatro son los detectores típicos más usados en ARP: se trata del de *captura electrónica* (ECD), el *fotométrico de llama* (FPD), el *nitrógeno-fosforo* (NPD) -también conocido como detector de ionización en llama alcalina

(AFID)- y , finalmente, el detector de *conductividad electrolítica de Hall* (HECD). Con estos cuatro detectores se cumplen prácticamente todas las necesidades en el análisis de plaguicidas por GC. Si bien, la *Espectrometría de Masas* (MSD) supone el complemento necesario para la correcta identificación del plaguicida detectado, de modo que su uso resulta obligado, hoy en día, para todos aquellos laboratorios especializados en ARP.

Los plaguicidas organoclorados (dicofol, tetradifon, lindano, etc) se suelen determinar por GC usando detector de ECD. Este detector tiene buena sensibilidad pero requiere extractos muy limpios, ya que, de lo contrario, se obtienen cromatogramas llenos de picos. Por ello, es necesario efectuar un buen clean-up de todos los extractos. Los PCBs, presentes generalmente en el medio ambiente, también se suelen analizar con ECD.

Para el análisis de los plaguicidas organofosforados (dimetoato, clorpirifos, metidation, etc) se usan los detectores selectivos de NPD y FPD. En general, el detector de FPD en modo fósforo es más selectivo que el NPD, aunque algo menos sensible. Por otro lado, la mayoría de estos plaguicidas pueden detectarse también por ECD aunque, como se ha indicado anteriormente, se requiere en este caso un clean-up más riguroso.

Los herbicidas fenoxiácidos (2,4-D, 2,4,5-T, MCPA, etc) se pueden detectar por ECD previa formación de los metil esteres. La esterificación con bromuro de pentafluorobencilo (PFBB) aumenta la respuesta al ECD de forma considerable. También se pueden analizar por HPLC, como se verá más adelante.

El análisis de N-metil-carbamatos (aldicarb, metiocarb, etc) resulta difícil por GC debido a su falta de estabilidad térmica y a la ausencia de detectores sensibles. Se puede realizar el análisis por ECD previa derivatización con ácido trifluoroacético o con anhidrido pentafluoropropiónico, con o sin catálisis. También se pueden detectar en su estado original, sin efectuar derivatización, usando un detector de HECD o NPD a temperaturas inferiores a 200 ºC. Sin embargo, el mejor modo de realizar los análisis de estos compuestos es mediante HPLC, como se verá después.

Para el análisis de triazinas se puede usar un detector de ECD, que responde moderadamente a estos compuestos. Se prefiere utilizar un detector sensible al nitrógeno (NPD) debido a su respuesta más uniforme y a su mejor selectividad.

El detector selectivo de masas es una excelente alternativa para la determinación e identificación de numerosos plaguicidas de diferentes familias, por lo que, en la actualidad, su uso resulta necesario para abordar con garantías el ARP.

Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)

La GC no es una técnica adecuada para el análisis de plaguicidas de baja estabilidad térmica (butocarboxim, carbaril, etc), ya que se descomponen a las temperaturas normales de trabajo. Estos compuestos se pueden determinar más adecuadamente por HPLC, ya que, al trabajar a temperatura

ambiente, no presenta los inconvenientes de degradación de plaguicidas a altas temperaturas.

La HPLC presenta, además, otras ventajas importantes. Así, permite la separación y cuantificación directa de compuestos no volátiles y termolábiles sin necesidad de derivatización; es altamente flexible y de aplicación general; puede adaptarse para un amplio rango de compuestos de muy diversas polaridades a causa del papel activo de la fase móvil en la separación y de la variedad de columnas existentes; el análisis es no destructivo; y los análisis se efectúan con mayor rapidez.

Desde mediados de los 70, cada vez se ha tendido más al uso de plaguicidas fácilmente degradables, con el fin de evitar los problemas de persistencia y acumulación de estos compuestos tóxicos en el medio ambiente. Muchos de estos plaguicidas (como los carbamatos, ureas, fenoles, fenoxiácidos, etc) son polares y/o termolábiles, no siendo adecuada su determinación directa por GC. Sin embargo, la HPLC es una excelente técnica para el análisis de estos plaguicidas. Además, permite un análisis semipreparativo, así como la preconcentración de la muestra, lo cual puede resultar muy útil en el análisis de residuos.

El uso combinado de GC y HPLC, junto con el espectacular avance experimentado por los sistemas de detección, permiten abordar con las suficientes garantías de exactitud y sensibilidad el análisis de residuos de la mayoría de plaguicidas utilizados en la actualidad. Se trata, por tanto, de técnicas complementarias que resultan imprescindibles en todo laboratorio de análisis de residuos de plaguicidas.

La Cromatografía en fase enlazada (BPC) es la más utilizada en ARP, especialmente en su modalidad de fase reversa (RP-BPC). En ella, se usa una f.e. no polar (generalmente, sílices enlazadas). Como f.m. se suelen usar mezclas polares como metanol-agua y acetonitrilo-agua.

Las columnas de HPLC están rellenas de pequeñas partículas (generalmente entre 3 y 10 um) de f.e. El uso de estas micropartículas hace que sea necesario bombear la f.m. a alta presión para que pase a través de la columna, al tiempo que se requieren unos flujos muy exactos y reproducibles para que las condiciones de la separación sean también reproducibles. Las más usadas en ARP son las de fase reversa (RP), que consisten en columnas de fase enlazada base sílica del tipo C18 y C8. Otros rellenos del tipo RPC enlazada llevan grupos C1, C2, C4, C12, C30, ciano, fenilo, diol o cilcohexilo.

Los detectores más utilizados en ARP son el *Ultravioleta-Visible*, bien de longitud de onda fija, bien de longitud de onda variable. En la actualidad, se está utilizando cada vez más un detector capaz de proporcionar una información tridimensional, es decir, valores de absorbancia, longitud de onda y tiempo. Se trata del detector de *barrido de diodos* (PDA), que permite la medida simultánea a todas las longitudes de onda lo que hace posible la obtención de espectros completos cada 0.01 segundos. Se puede, por ello, realizar la determinación de cada compuesto a la longitud de onda óptima, pudiendo seleccionar, en cada caso, las condiciones más adecuadas para la detección. La posibilidad de obtener el espectro completo de los eluatos abre

un nuevo camino en cuanto a identificación y selectividad del procedimiento. Su principal desventaja es la baja sensibilidad comparada con los detectores de longitud de onda fija y variable.

Mediante la técnica HPLC con detección UV se pueden analizar numerosos plaguicidas, como los fungicidas post-cosecha (bifenilo, benomilo, carbendazima, o-fenilfenol, tiabendazol y metil-tiofanato), herbicidas derivados de la urea (monuron, monolinuron, diuron, linuron, cloroxuron, etc), triazinas (atrazina, simazina, terbutrina, etc), herbicidas fenoxiácidos (2,4-D, MCPA, 2,4,5-T, etc), entre otros.

Detector de fluorescencia. Es más sensible y selectivo que el de UV-VIS. Se puede aplicar para el análisis de compuestos que presentan fluorescencia natural, aunque su principal aplicación es el análisis de plaguicidas no fluorescentes previa formación de derivados fluorescentes adecuados. Estos derivados se pueden formar en el modo pre-columna o en post-columna. El caso más conocido es el análisis de N-metil carbamatos (carbaril, pirimicarb, propoxur, metiocarb, aldicarb, etc), que se determinan habitualmente por HPLC con detección fluorescente, usando la técnica de derivatización en post-columna. Otro ejemplo es la determinación de herbicidas como glifosato, glufosinato y AMPA, previa reacción de derivatización para dar un derivado fluorescente (Sancho et al, 1993).

Otros detectores menos utilizados son el electroquímico, el detector de espectrometría de masas, los detectores de cromatografía de gases, como el fotométrico de llama y el ECD, y el detector de fotoconductividad.

En las legislaciones de la mayoría de los países están establecidos los límites máximos de residuos de plaguicidas en productos alimenticios, así como en las aguas de consumo público y otras muestras de interés ambiental. Para comprobar el cumplimiento de estos límites se requieren análisis fiables. El problema se plantea cuando en una muestra se detecta un plaguicida en concentración superior a la permitida. En estos casos, antes de emitir un juicio sobre los contenidos finales encontrados, es necesario confirmar la identidad del plaguicida. Para la identificación de los plaguicidas se utilizan los tiempos de retención, bien absolutos o bien relativos a algún plaguicida de referencia; sin embargo, este criterio no es suficiente cuando se sospecha que se ha rebasado el valor permitido en la muestra analizada. Si el análisis se ha realizado por GC, se debe confirmar la identidad del plaguicida mediante el uso de otra columna de polaridad diferente u otro detector en un segundo análisis; tambien se puede aplicar otra técnica distinta, como HPLC o incluso TLC. En los últimos años, el uso combinado de la GC o HPLC con la espectrometría de masas se ha convertido en la técnica más poderosa para la identificación de residuos de plaguicidas.

En conclusión, el análisis de residuos de plaguicidas es un tema complejo y difícil, no existiendo procedimientos ni técnicas universales. En consecuencia, se debe considerar cada caso en particular y establecer las condiciones adecuadas de extracción y clean-up, debiéndose optimizar tambien la separación cromatográfica y las condiciones para la detección, identificación y cuantificación del plaguicida.

Por otro lado, la complejidad de los equipos instrumentales necesarios (varios cromatógrafos de gases y equipos de HPLC con diferentes detectores) y el elevado precio de los reactivos y disolventes empleados (especiales para análisis de residuos) eleva el coste de los análisis considerablemente, en comparación con el análisis de compuestos inorgánicos. Además, se necesita personal cualificado para el uso y mantenimiento de los sofisticados equipos cromatográficos.

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

BEIER, C, and HANSEN, K. (1992) Evaluation of porous cup soil-water samplers under controlled field conditions: comparison of ceramic and PTFE cups. *J. Soil Science*, 43, 261-271

BELTRAN, J., HERNANDEZ, F., MORELL, I., NAVARRETE, P., and AROCA, E. (1993) Analysis of several pesticides along the unsaturated zone in an experimental citrus grove of Castellón (Spain), *Science of the Total Environment* 132, 243-257

BELTRAN, J., LOPEZ, F.J., HERNANDEZ, F. (1993), Solid-phase extraction of pesticide residues in groundwater: A comparison between C18 cartridges and extraction disks, *Anal. Chim. Acta*, en prensa.

BELTRAN, J., HERNANDEZ, F., LOPEZ, F.J., MORELL, I. (1993), Study of sorption processes of selected pesticides on soils and ceramic cups used for soil-solution sampling, *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, en prensa.

BERNHARD, C. and SCHENCK, C. (1986) Utilisation de bougies poreuses pour extraire la solution du sol dans le ried central de L'ill en Alsace, *Bulletin du G.F.H.N.* 20, 73-85

CHEVERRY, C. (1983) L'extraction de la solution du sol par le biais de bougies poreuses, *Bulletin du G.F.H.N.* 14, 47-71

FAO/WHO (1984), Pesticide Residue Analysis, *Proceedings of a Joint FAO/WHO Course*, Eger, Hungary, April 1983.

GERRITSE, R.G. and Adeney, J.A. (1985) Rapid determination in water of chloride, sulphate, sulphite, selenite, selenate and arsenate among other inorganic and organic solutes by ion chromatography with UV detection below 195 nm, *J. Chromatogr.*, 419-428

HERNANDEZ, F. , LOPEZ, F.J. , MEDINA, J. and BARBERA, J.C. (1987) *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.*, 70, 727-33

HERNANDEZ, F (1993), Análisis de residuos de plaguicidas, en *La zona no saturada y la contaminación de aguas subterráneas. Teoría, medición y modelos*, Eds. L. Candela y M. Varela, Secretaría de Estado para las Políticas de Agua y Medio Ambiente - Fundación Internacional de Hidrología Subterránea, Barcelona.

HERNANDEZ, F., MORELL, I., BELTRAN, J., LOPEZ, F.J. (1993), Multi-residue procedure for the analysis of pesticides in groundwater: Aplication to samples from the Comudidad Valenciana (Spain), *Chromatographia* 37, 303-312

HERNANDEZ, F., BELTRAN, J., and SANCHO, J.V. (1993), Study of multi-residue methods for the determination of selected pesticides in groundwater, *The Science of Total Environment*, 132, 297-312

HERNANDEZ, F., BELTRAN, J., LOPEZ, F.J. (1993) Study of sample clean-up for the determination of organochlorine and organophosphorous pesticides in samples from the vadose zone, *Quim. Anal.*, en prensa.

Manual of Pesticides Residue Analysis (1987), Hans-Peter Thier and Hans Zeumer Ed., *Pesticides Commission DFG, VCH.*

Pesticide Analytical Manual. (1990), Vol I, Chap 5 "High Performance Liquid Chromatography", FDA, July

POOLE, C F. and SCHUETTE, S A. (1984) *Contemporary Practice of Cromatography*, Elsevier.

RICHARD, J.J. and JUNK, G.A. (1986), *Mikrochim. Acta*, 1, 387-94

RODIER, J. (1981) Análisis de las Aguas, Omega

SANCHO, J.V., HERNANDEZ, F., HOGENDOORN, E.A., VAN ZOONEN, P. (1993) A rapid method for the residue analysis of ieght chlorophenoxiacids in environmental water samples using off-line SPE and on-line precolumn swithching, *Anal. Chim. Acta*, en prensa.

SANCHO, J.V., HERNANDEZ, F., HOGENDOORN, E.A., VAN ZOONEN, P. (1993) Rapid determination of glufosinate in environmental water samples using FMOC-precolumn derivatization, large volume injection and multi-dimensional coupled-column LC, pendiente de publicación.

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (1989), *American Public Health Association*, 17th Edition, Washington

WELLS, M.J.M. , MICHAEL, J.L. (1987), *J. Cromatogr. Science*, 25, 345-350