



Adsorción, persistencia y movilidad de compuestos orgánicos polares contaminantes de suelos.

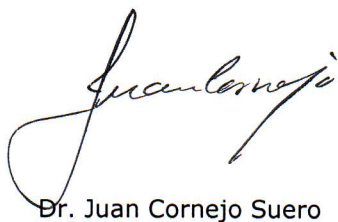
Memoria que presenta
Miguel Real Ojeda
para optar al título de Doctor por la
Universidad de Sevilla.

Sevilla, Diciembre de 2009

Adsorción, persistencia y movilidad de compuestos orgánicos polares contaminantes de suelos.

Visado en Sevilla, a 21 de ENERO de 2010

LOS DIRECTORES



Dr. Juan Cornejo Suero

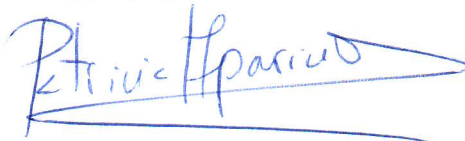
Profesor de Investigación del C.S.I.C



Dr. Rafael Celis García

Investigador Científico del C.S.I.C.

EL TUTOR

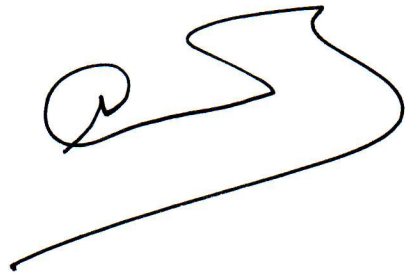


Dr. Patricia Aparicio Fernández

Profesora Titular de la Universidad de Sevilla

DOCTOR D. LUIS CLEMENTE SALAS, DIRECTOR DEL INSTITUTO DE RECURSOS NATURALES Y AGROBIOLOGÍA DE SEVILLA DEL CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

Certifica: Que la presente Memoria de Investigación titulada "Adsorción, persistencia y movilidad de compuestos orgánicos polares contaminantes de suelos", presentada por D. Miguel Real Ojeda para optar al grado de Doctor por la Universidad de Sevilla, ha sido realizada en el Departamento de Agroquímica y Conservación de Suelos en el Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (I.R.N.A.S.), bajo la dirección del Prof. D. Juan Cornejo Suero y el Dr. D. Rafael Celis García, reuniendo todas las condiciones exigidas a los trabajos de Tesis Doctorales.

A handwritten signature in black ink, consisting of a stylized, cursive script that appears to be the name 'Luis Clemente Salas'.

En Sevilla, a 21 de ENERO de 2010

El presente trabajo se ha realizado en el marco del Proyecto EVK1-CT-2001-00105 de la Unión Europea y los Proyectos de Excelencia P06-AGR-01565 y P07-AGR-03077 de la Junta de Andalucía.

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría expresar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que han contribuido a la realización de este trabajo:

En primer lugar, me gustaría agradecer a mis directores de tesis, el Profesor de Investigación D. Juan Cornejo Suero y al Investigador Científico D. Rafael Celis García, su apoyo durante la realización de este trabajo. Muchas gracias por vuestra paciencia, por vuestro consejo constante, por el interés mostrado para la lectura y corrección de este trabajo. Sin duda alguna habéis sido un pilar fundamental para la conclusión del mismo.

A la dirección del Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (I.R.N.A.S.) del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (C.S.I.C.) por las facilidades prestadas para llevar a cabo este trabajo.

A la Profesora de Investigación Dña. María del Carmen Hermosín Gaviño por sus valiosas sugerencias durante la exposición del D.E.A.

A la Investigadora Científica Dña. Lucia Cox Meana por la oportunidad de colaborar en su proyecto de investigación durante tres meses.

Al Dr. Hubert de Jonge del Danish Institute of Agricultural Sciences (Tjele, Dinamarca) por los datos sobre fenantreno utilizados en este trabajo.

A mis compañeros de laboratorio Felipe y Nacho por su compañerismo y apoyo, por aguantarme a diario, que no es poco. A Bea, Carmen y Marian, *las niñas del laboratorio de enfrente*, por sus visitas, su buen humor y por todo el material prestado para la realización de este trabajo. A Gracia, Pili y Chari por brindarme vuestra amistad durante tantos años y espero que sean durante muchos más. A María Jesús por su ayuda con el HPLC y su apoyo durante tantos años. A Anabel por su simpatía y a Isabel por su compañerismo. A Alegría y Ana por vuestro interés, incluso estando a tantos kilómetros de distancia. A Juan Francisco por la grata compañía en tantos viajes por Andalucía.

A todos mis amigos, en especial a Christoph y Manolo, dos locos que me permitieron entrar en su mundo, a Abelardo, Francisco y Ángel por mantener la amistad durante tantos años y ser casi como de mi familia, a Ángel Suárez, el tío más raro que conozco, sigue así, no cambies.

A mi familia, en especial a mis padres, a mi hermano Javi, a mi tía Maricarmen, a mi tío Manolo, mi abuela Carmen y a mi familia algecireña. Por haberme hecho como soy, porque cada vez que pienso en vosotros sólo me vienen buenos recuerdos, por vuestro amor y cariño, por ser la mejor familia del mundo.

A las dos personas más importantes en mi vida: a Cristina, por ser como eres, por el regalo que es estar cada día a tu lado, te quiero. Y a Eva, mi hija, a su sonrisa capaz de darme ánimo para superar cualquier reto. Este trabajo es vuestro.

ÍNDICE

Preámbulo.....	1
Preface.....	3
<u>I. Introducción.....</u>	5
I.1. Presencia de contaminantes orgánicos en el suelo.....	7
I.1.1. Generalidades.....	7
I.1.2. Hidrocarburos aromáticos policíclicos sustituidos (hetero-PAHs) y ácidos aromáticos como contaminantes orgánicos del suelo.....	8
I.1.2.1. Presencia de hetero-PAHs en suelos.....	8
I.1.2.2. Presencia de ácidos aromáticos en suelos.....	12
I.2. Dinámica de los contaminantes orgánicos en el suelo.....	15
I.2.1 Adsorción-desorción.....	16
I.2.1.1. Medidas de adsorción: isoterma.....	18
I.2.1.2. Factores que influyen en la adsorción.....	21
I.2.1.2.1. Relativos al suelo: composición coloidal del suelo.....	21
I.2.1.2.2. Naturaleza del adsorbato.....	26
I.2.1.2.3. Características de la disolución del suelo.....	28
I.2.1.2.4. Otros factores.....	29
I.2.2. Lixiviación.....	29
I.2.2.1. Principales factores que afectan a la lixiviación.....	29
I.2.2.1.1. Adsorción por los coloides del suelo.....	30
I.2.2.1.2. Características físico-químicas del contaminante.....	33
I.2.2.1.3. Características del suelo.....	34
I.2.2.1.4. Intensidad y frecuencia del agua de lluvia o riego.....	35
I.2.2.2. Estudio de la lixiviación.....	35
I.2.2.2.1. Lisímetros.....	36
I.2.2.2.2. Cromatografía en capa gruesa.....	36
I.2.2.2.3. Cromatografía de capa fina.....	37
I.2.2.2.4. Columnas de suelo.....	37
I.2.3. Otros procesos de transporte: volatilización, escorrentía, difusión y absorción por plantas y organismos.....	39

I.2.3.1. Volatilización.....	39
I.2.3.2. Escorrentía.....	41
I.2.3.3. Difusión.....	42
I.2.3.4. Absorción por plantas y organismos.....	42
I.2.4. Degradación.....	43
I.2.4.1. Fotodegradación.....	44
I.2.4.2. Degradación química.....	44
I.2.4.3. Degradación biológica.....	45
<u>II. Objetivos.....</u>	53
<u>III. Materiales y métodos.....</u>	57
III.1. Materiales.....	59
III.1.1. Hidrocarburos aromáticos policíclicos sustituidos.....	59
III.1.1.1. Benzofurano.....	59
III.1.1.2. Dibenzofurano.....	60
III.1.1.3. Acridina.....	61
III.1.2. Ácidos aromáticos.....	61
III.1.2.1. Picloram.....	61
III.1.2.2. Ácido o-ftálico.....	62
III.1.2.3. Ácido salicílico.....	63
III.1.3. Suelos, fracciones arcilla y adsorbentes modelos.....	64
III.1.3.1. Suelos.....	64
III.1.3.2. Fracciones arcilla de los suelos.....	65
III.1.3.3. Adsorbentes modelos.....	65
III.1.3.3.1. Adsorbentes primarios.....	66
III.1.3.3.2. Asociaciones binarias.....	66
III.1.3.3.3. Asociaciones ternarias.....	67
III.2. Métodos.....	69
III.2.1. Caracterización de los suelos, fracciones arcilla y adsorbentes modelos.....	69
III.2.1.1. Caracterización de los suelos.....	69

III.2.1.2. Caracterización de las fracciones arcilla.....	69
III.2.1.3. Caracterización de los adsorbentes modelos.....	69
III.2.2. Experiencias con hidrocarburos aromáticos policíclicos sustituídos.....	70
III.2.2.1. Adsorción a suelos, fracciones arcilla y adsorbentes modelos.....	70
III.2.2.1.1. Adsorción a suelos y estudios de desorción.....	71
III.2.2.1.2. Adsorción a las fracciones arcilla.....	72
III.2.2.1.3. Adsorción a adsorbentes modelos.....	72
III.2.2.2. Experimentos de incubación.....	72
III.2.2.3. Estudios de movilidad en columnas.....	74
III.2.2.3.1. Columnas empaquetadas a mano.....	74
III.2.2.3.2. Columnas inalteradas.....	75
III.2.2.4. Estudios de toxicidad.....	77
III.2.2.5. Análisis de los hetero-PAHs.....	78
III.2.3. Experiencias con ácidos aromáticos.....	80
III.2.3.1. Cinéticas de disipación de los ácidos aromáticos en los suelos.....	80
III.2.3.2. Adsorción de los ácidos aromáticos a las fracciones arcilla y a los adsorbentes modelos.....	81
III.2.3.2.1. Adsorción a las fracciones arcilla.....	81
III.2.3.2.2. Adsorción del ácido salicílico a los adsorbentes modelos.....	81
III.2.3.3. Estudios de movilidad de los ácidos aromáticos en columnas de suelo.....	82
III.2.3.4. Estudio de toxicidad del ácido salicílico.....	83
III.2.3.5. Análisis de los ácidos aromáticos.....	83
 <u>IV. Resultados y discusión.....</u>	87
 IV.1. Características de los suelos, fracciones arcilla y adsorbentes modelos.....	89
IV.1.1. Características de los suelos.....	89
IV.1.2. Características de las fracciones arcilla.....	93
IV.1.3. Características de los adsorbentes modelos.....	95

IV.2. Experiencias con hidrocarburos aromáticos policíclicos sustituidos...	99
IV.2.1. Estudios de adsorción-desorción.....	99
IV.2.1.1. Experimentos de adsorción y desorción a suelos.....	99
IV.2.1.1.1. Coeficientes de distribución a concentración única.....	99
IV.2.1.1.1.1. Influencia de las propiedades del compuesto orgánico en la adsorción.....	100
IV.2.1.1.1.2. Influencia de las propiedades de los suelos en la adsorción.....	102
IV.2.1.1.2. Isotermas de adsorción.....	105
IV.2.1.1.3. Isotermas de desorción.....	108
IV.2.1.2. Experimentos de adsorción a las fracciones arcilla.....	112
IV.2.1.3. Experimentos de adsorción a adsorbentes modelos.....	115
IV.2.1.3.1. Comportamiento de benzofurano y dibenzofurano frente a adsorbentes modelos.....	117
IV.2.1.3.2. Comportamiento de acridina frente a adsorbentes modelos.....	119
IV.2.1.4. Consideraciones generales sobre los resultados de los experimentos de adsorción y desorción llevados a cabo con hidrocarburos aromáticos policíclicos sustituidos.....	120
IV.2.2. Estudios de incubación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos sustituidos en los suelos.....	123
IV.2.3. Estudios de movilidad de los hetero-PAHs en columnas de suelo.....	131
IV.2.3.1. Estudios de movilidad en columnas empaquetadas a mano..	131
IV.2.3.1.1. Influencia de la materia orgánica disuelta en la lixiviación.....	137
IV.2.3.1.2. Influencia de la dosis inicial en la lixiviación de dibenzofurano.....	142
IV.2.3.1.3. Influencia de la presencia de iones en el medio en la lixiviación de acridina.....	143
IV.2.3.2. Estudios de movilidad de dibenzofurano en columnas inalteradas.....	145
IV.2.4. Estudios de toxicidad.....	147
IV.3. Experiencias con ácidos aromáticos de bajo peso molecular.....	153
IV.3.1. Cinéticas de disipación de los ácidos aromáticos en los suelos...	153

IV.3.2. Adsorción a las fracciones arcilla de los suelos y a adsorbentes modelos.....	156
IV.3.2.1. Adsorción a las fracciones arcilla de los suelos.....	156
IV.3.2.2. Adsorción a adsorbentes modelos.....	157
IV.3.3. Estudios de movilidad en columnas.....	160
IV.3.4. Estudio de toxicidad.....	163
<u>V. Conclusiones.....</u>	165
<u>VI. Bibliografía.....</u>	171
<u>VII. Publicaciones.....</u>	195

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I.1. Procesos que determinan la dinámica de los contaminantes orgánicos en el suelo.....	15
Tabla I.2. Resultados de la adsorción de 2,4-D a los principales componentes de la fracción coloidal del suelo (Celis <i>et al.</i> , 1999).....	25
Tabla I.3. Resultados de la adsorción de fenantreno a los principales componentes de la fracción coloidal del suelo (Celis <i>et al.</i> , 2006).....	26
Tabla I.4. Coeficientes de adsorción, K_d (l/kg), obtenidos para benzofurano, 2-metilbenzofurano y 2,3-dimetilbenzofurano en 5 suelos de referencia europeos (Bi <i>et al.</i> , 2006).....	27
Tabla I.5. Presión de vapor y peso molecular de los 16 PAHs clasificados por la USEPA como contaminantes prioritarios.....	40
Tabla III.1. Algunas propiedades fisicoquímicas de los compuestos orgánicos estudiados.....	64
Tabla III.2. Propiedades físico-químicas del ácido húmico utilizado.....	66
Tabla III.3. Condiciones cromatográficas empleadas para el análisis de cada uno de los hetero-PAHs.....	79
Tabla III.4. Límites de detección y cuantificación establecidos para benzofurano, dibenzofurano y acridina.....	79
Tabla III.5. Condiciones cromatográficas empleadas para el análisis de cada uno de los ácidos aromáticos.....	84
Tabla III.6. Límites de detección y cuantificación establecidos para ácido salicílico, ácido o-ftálico y picloram.....	84
Tabla IV.1. Características fisicoquímicas de los suelos P2, Flakkebjerg, Askov, Borris, IFA, Kettering y Norway.....	89

Tabla IV.2. Características de las fracciones arcilla de los suelos Borris, Kettering, Askov y P2 recuperadas por sedimentación.....	93
Tabla IV.3. Características de los adsorbentes modelos.....	95
Tabla IV.4. Coeficientes de distribución (K_d) de benzofurano, dibenzofurano y acridina en suelos. A título comparativo se dan los coeficientes de adsorción de fenantreno a los mismos suelos extraídos de Celis <i>et al.</i> (2006).....	100
Tabla IV.5. Coeficientes de correlación obtenidos entre los valores de K_d de fenantreno, benzofurano, dibenzofurano y acridina y las principales propiedades físico-químicas de los suelos.....	103
Tabla IV.6. Correlaciones dobles obtenidas entre los valores de K_d de fenantreno, benzofurano, dibenzofurano y acridina y combinaciones del contenido de carbono orgánico con el resto de las principales propiedades de los suelos.....	104
Tabla IV.7. Coeficientes de regresión obtenidos tras el ajuste de las isothermas de adsorción de benzofurano, dibenzofurano y acridina a los suelos a la ecuación de Freundlich.....	107
Tabla IV.8. Valores de K_f y n obtenidos del ajuste de las isothermas de adsorción a la ecuación de Freundlich.....	108
Tabla IV.9. Coeficientes de adsorción a las fracciones arcilla de los suelos Borris, Kettering, Askov y P2 para fenantreno, benzofurano, dibenzofurano y acridina.....	113
Tabla IV.10. Contenido en materia orgánica y componentes inorgánicos de las fracciones arcilla de los suelos.....	114

Tabla IV.11. Coeficientes de distribución de benzofurano, dibenzofurano y acridina para adsorbentes modelos. Se incluyen también los valores obtenidos para fenantreno a título comparativo (Celis <i>et al.</i> , 2006).....	116
Tabla IV.12. Contribución del componente mineral en la adsorción de fenantreno, benzofurano y dibenzofurano a las asociaciones modelos con AH.....	119
Tabla IV.13. Constantes cinéticas obtenidas tras ajustar los datos de disipación de benzofurano a la ecuación Ec.1.....	124
Tabla IV.14. Constantes cinéticas obtenidas tras ajustar los datos de disipación de dibenzofurano a la ecuación Ec.2.....	126
Tabla IV.15. Constantes cinéticas obtenidas tras ajustar los datos de disipación de acridina a la ecuación Ec.2.....	126
Tabla IV.16. TD ₅₀ calculados a partir de las ecuaciones de disipación obtenidas para cada compuesto en los diferentes suelos a temperatura ambiente y 4° C.....	127
Tabla IV.17. Constantes cinéticas obtenidas tras ajustar los datos de disipación de dibenzofurano a bajas dosis a la ecuación Ec.2.....	130
Tabla IV.18. TD ₅₀ calculados a partir de las ecuaciones de disipación obtenidas para dibenzofurano a 10 y 100 mg/kg en los diferentes suelos a temperatura ambiente y 4° C.....	130
Tabla IV.19. Índices GUS calculados con los datos obtenidos en los experimentos de adsorción y disipación en suelos mediante la ecuación Ec.3.....	137
Tabla IV.20. Porcentaje de adsorción y coeficientes de distribución (K _d) de los ácidos salicílico, ftálico y picloram a las fracciones arcilla de los suelos Borris, Kettering, Askov y P2. La relación sólido:disolución utilizada fue 50 mg de fracción arcilla:10 ml del ácido correspondiente a concentración 10 µM en CaCl ₂ 0.01 M.....	156

Tabla IV.21. Porcentaje de adsorción y coeficiente de distribución (K_d) de ácido salicílico a las fracciones arcilla de los suelos Borris, Askov, P2 y Kettering en agua destilada y en CaCl_2 0.01 M. La relación sólido:disolución utilizada fue 50 mg de fracción arcilla:10 ml de disolución de ácido salicílico a concentración 10 μM	157
Tabla IV.22. Porcentaje de adsorción de ácido salicílico a los adsorbentes modelos simples, binarios y ternarios, y valores de superficie específica de los mismos.....	158
Tabla IV.23. Influencia de la adición de ácido salicílico en dosis de 200 y 1000 mg/kg sobre el número y peso de plantas de berro 4 semanas después de la siembra y aplicación del ácido.....	164

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura I.1. Hidrocarburos aromáticos policíclicos clasificados como contaminantes prioritarios por la Agencia de Protección del Medio Ambiente de los Estados Unidos (USEPA).....	10
Figura I.2. Algunos hetero-PAHs y sus solubilidades en agua (USEPA).....	11
Figura I.3. Esquema del origen y comportamiento de ácidos aromáticos en el suelo.....	13
Figura I.4. Interrelación entre los procesos que determinan la dinámica de los contaminantes orgánicos y sus metabolitos en el suelo.....	16
Figura I.5. Dinámica de los compuestos orgánicos entre las distintas fases del suelo..	18
Figura I.6. Tipos de isothermas de adsorción según Giles <i>et al.</i> (1960).....	20
Figura I. 7. Estructura de los filosilicatos tipo 1:1 y 2:1.....	22
Figura I.8. Extracción de las fracciones orgánicas del suelo.....	24
Figura I.9. Estructura molecular del herbicida 2,4-D.....	25
Figura I.10. Estructura molecular de fenantreno.....	26
Figura I.11. Esquema de un lisímetro.....	36
Figura I.12. Esquema de una columna empaquetada a mano.....	38
Figura I.13. Ejemplo del producto natural con estructura de PAH (4,9-dihidroxiperileno-3,10-quinona) del hongo <i>Daldinia concentrica</i>	43
Figura I.14. Ruta de la oxidación del naftaleno por <i>Mycobacterium sp.</i>	47

Figura I.15. Ruta de degradación de dibenzofurano por <i>Janibacter</i> sp. YY-1.....	48
Figura I.16. Ruta de biodegradación propuesta para fenantreno.....	49
Figura I.17. Ruta de biodegradación propuesta para antraceno.....	50
Figura I.18. Diferentes curvas de biodegradación.....	52
Figura III.1. Benzofurano.....	59
Figura III.2. Dibenzofurano.....	60
Figura III.3. Acridina.....	61
Figura III.4. Picloram.....	62
Figura III.5. Ácido o-ftálico.....	62
Figura III.6. Acido salicílico.....	63
Figura III.7. Localización de los suelos seleccionados.....	65
Figura III.8. Fotografía de los recipientes usados en los experimentos de incubación.....	73
Figura III.9. Fotografía de las columnas de suelo empaquetadas a mano durante el estudio de movilidad de hidrocarburos aromáticos policíclicos sustituidos.....	74
Figura III.10. Fotografía de las columnas inalteradas de suelo P2 utilizadas para el estudio de movilidad de dibenzofurano. Detalle de la toma de muestra con barrena realizada en las columnas inalteradas de suelo P2.....	76
Figura III.11. Fotografía de las macetas utilizadas para realizar los bioensayos con hetero-PAHs.....	78

Figura III.12. Cromatogramas obtenidos para cada uno de los hetero-PAHs con una disolución patrón 10 μ M junto con sus respectivos espectros de absorción.....	80
Figura III.13. Fotografía de unas macetas utilizadas en el ensayo de toxicidad.....	83
Figura III.14. Cromatograma obtenido para cada uno de los ácidos aromáticos con una disolución patrón 10 μ M junto con sus respectivos espectros de adsorción.....	85
Figura IV.1. Isotermas de adsorción-desorción de nitrógeno de los suelos Borris, Kettering, Askov y P2.....	91
Figura IV.2. Distribución de tamaños de poros obtenida por intrusión de mercurio de los suelos Borris, Kettering Askov y P2.....	92
Figura IV.3. Difractograma de agregados orientados de las fracciones arcilla de los suelos Borris, Kettering, Askov y P2 sometidas a diferentes tratamientos.....	94
Figura IV.4. Isotermas de adsorción de acridina, dibenzofurano y benzofurano a los diferentes suelos.....	106
Figura IV.5. Isotermas de adsorción-desorción de dibenzofurano en los suelos Borris, Kettering, Askov y P2 y coeficientes de histéresis (H) resultantes.....	109
Figura IV.6. Isotermas de adsorción-desorción de benzofurano en los suelos Borris, Kettering, Askov y P2 y coeficientes de histéresis (H) resultantes.....	111
Figura IV.7. Isotermas de adsorción-desorción de acridina en los suelos Borris, Kettering, Askov y P2 y coeficientes de histéresis (H) resultantes.....	112
Figura IV.8. K_{d-oc} obtenidos en la adsorción de dibenzofurano a los suelos frente a dos posibles indicadores del grado de asociación de la materia orgánica.....	122

Figura IV.9. Curvas de disipación de benzofurano, dibenzofurano y acridina en los suelos Borris, Askov, P2 y Kettering a temperatura ambiente y a 4° C. Los símbolos corresponden a datos experimentales, mientras que las curvas corresponden a los ajustes de los mismos a las ecuaciones Ec.1 y Ec.2.....	123
Figura IV.10. Influencia de la concentración inicial en las curvas de disipación de dibenzofurano en los suelos Borris, Askov, P2 y Kettering a temperatura ambiente y a 4° C. Los símbolos corresponden a los datos experimentales, mientras que las curvas corresponden al ajuste de los mismos a la ecuación Ec.2.....	129
Figura IV.11. Curvas de elución acumuladas de benzofurano para columnas empaquetadas con suelos Borris, Askov, P2 y Kettering y ampliación para Borris, Askov y Kettering.....	131
Figura IV.12. Extracciones de acridina, benzofurano y dibenzofurano a distintas profundidades de las columnas empaquetadas a mano de los suelos Borris, Kettering, Askov y P2. Se dan las cantidades extraídas, lixiviadas y no recuperadas de los hetero-PAHs en cada uno de los suelos.....	133
Figura IV.13. Extracciones de acridina a distintas profundidades de la columna empaquetada a mano del suelo Norway. Además, se dan las cantidades extraídas, lixiviadas y no recuperadas de acridina en el suelo Norway.....	135
Figura IV.14. Curvas de elución acumuladas de acridina, dibenzofurano y benzofurano en columnas empaquetadas a mano con los suelos Borris y P2 eluidas con agua y MOD.....	138
Figura IV.15. Esquema de los posibles comportamientos que se dan en la lixiviación de los hetero-PAHs a través del suelo Borris y P2 en presencia de MOD.....	139
Figura IV.16. Extracciones de los hetero-PAHs a distintas profundidades de las columnas empaquetadas a mano utilizadas para los experimentos de lixiviación con MOD. También se adjunta, a título comparativo, los datos obtenidos en los mismos experimentos con agua.....	141

Figura IV.17. Extracciones de dibenzofurano a distintas profundidades obtenidas de las columnas empaquetadas a mano utilizadas para los experimentos de lixiviación a dosis iniciales de 10 y 100 kg/ha.....	142
Figura IV.18. Curvas de elución acumuladas y extracciones de las columnas a diferentes profundidades en los experimentos de lixiviación realizados con acridina en columnas empaquetadas a mano con suelo Borrís y P2 eluidas con CaCl ₂ 0.01M. A título comparativo, se acompañan los resultados obtenidos en los experimentos de lixiviación eluidos con agua.....	144
Figura IV.19. Curvas de elución acumuladas y extracciones de las columnas a diferentes profundidades en los experimentos de lixiviación realizados con dibenzofurano en columnas inalteradas de suelo P2. A título comparativo, se acompañan los resultados obtenidos en los experimentos de lixiviación realizados en columnas empaquetadas a mano con suelo P2 a la misma dosis de aplicación.....	145
Figura IV.20. Número de semillas germinadas y plantas mayores de 1 cm en función del tiempo obtenidos en los bioensayos realizados con macetas de berro con suelo P2 para acridina, dibenzofurano y benzofurano.....	148
Figura IV.21. Pesos finales de las plantas de berro en función de la dosis para acridina, dibenzofurano y benzofurano.....	149
Figura IV.22. Fotografías correspondientes al día 7 y 12 del bioensayo realizado con acridina.....	150
Figura IV.23. Fotografías correspondientes al día 7 y 12 del bioensayo realizado con dibenzofurano.....	151
Figura IV.24. Fotografías correspondientes al día 7 y 12 del bioensayo realizado con benzofurano.....	152

Figura IV.25. Cinéticas de disipación de los ácidos salicílico, o-ftálico y picloram en los suelos Borris, Kettering, Askov y P2 a concentraciones iniciales de 10 μ M.....	153
Figura IV.26. Cantidades de picloram, ácido salicílico y ácido ftálico en disolución, recuperadas del suelo y no recuperadas durante la cinética con suelo P2 a concentraciones iniciales de 10 μ M.....	155
Figura IV.27. Concentraciones de ácido salicílico en disolución, recuperadas del suelo y no recuperadas durante la cinética a las concentraciones de 10 μ M y 1 mM....	155
Figura IV.28. Curvas de lixiviación acumuladas de los ácidos salicílico, ftálico y picloram en los suelos P2, Borris, Askov y Kettering a una dosis de aplicación de 10 kg/ha. También se representa la curva acumulada de lixiviación para el ácido salicílico a una dosis de aplicación de 100 kg/ha.....	160
Figura IV.29. Curvas de lixiviación acumuladas de los ácidos picloram, ftálico y salicílico en los suelos P2, Borris, Askov y Kettering a una dosis de aplicación de 10 kg/ha. Los porcentajes lixiviados de cada compuesto para cada suelo se indican entre paréntesis	163
Figura IV.30. Influencia de la adición de ácido salicílico en dosis de 200 y 1000 mg/kg sobre la germinación de plantas de berro (<i>Lepidium sativum</i>). Estado de las macetas 1 semana después de la siembra y aplicación del ácido.....	164

El agua y el suelo son importantes recursos naturales que deben ser preservados. El suelo actúa como una barrera protectora de las aguas subterráneas impidiendo la llegada de contaminantes a las mismas. Esto nos da una idea de la estrecha relación que existe entre suelo y agua, de tal manera que al afectarse uno se afecta el otro.

La presente memoria se encuadra dentro de la escasa información de la que se dispone acerca del comportamiento de las fracciones más polares existentes en suelos afectados por la presencia de contaminantes orgánicos hidrofóbicos, en particular del tipo de los hidrocarburos aromáticos policíclicos. En tales suelos, mientras que el estudio y seguimiento de las fracciones más hidrofóbicas recibe a menudo una gran atención, el comportamiento de las fracciones más hidrofílicas, por ser minoritarias, es a veces ignorado. Los compuestos que componen la fracción hidrofílica, al tener una mayor solubilidad en agua, tienen mayor capacidad para lixiviar y, por tanto, para contaminar aguas subterráneas. Este hecho se pone de manifiesto en varias publicaciones donde los autores encuentran en aguas subterráneas mayores concentraciones de los compuestos que componen esta fracción hidrofílica que de los que se encuentran en la fracción más hidrofóbica.

Dentro de estas fracciones más hidrofílicas destacan los hidrocarburos aromáticos policíclicos sustituidos o hetero-PAHs y productos de degradación como los ácidos aromáticos. El comportamiento de estos dos grupos de compuestos en suelos ha sido el objeto de este trabajo. Entre los hetero-PAHs se seleccionaron benzofurano, dibenzofurano y acridina, y dentro de los ácidos aromáticos se eligieron ácido salicílico, ácido ftálico y picloram.

Con los compuestos anteriormente mencionados se han realizado experimentos de adsorción-desorción, estudios de movilidad en columnas y cinéticas de disipación utilizando suelos provenientes de distintas regiones edafoclimáticas de Europa para así poder relacionar los resultados obtenidos con las características de los mismos. Además, se realizaron bioensayos con plantas de berro (*Lepidium sativum*) para poner de manifiesto posibles efectos tóxicos de estas moléculas en el medio ambiente.

Es de esperar que los resultados presentados en esta memoria contribuyan a poner de manifiesto la importancia del estudio de la dinámica de este tipo de compuestos así como su efecto tóxico sobre organismos vivos, con el fin de lograr una evaluación de riesgos más adecuada de suelos afectados por la presencia de contaminantes orgánicos.

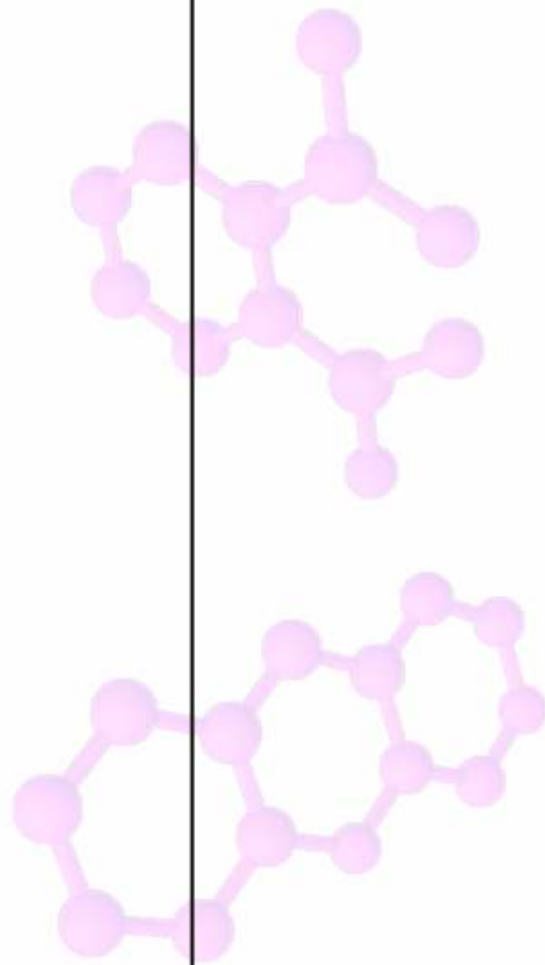
Soil and water are important natural resources which need to be protected. Soil plays an important role in preventing pollutants from reaching groundwater. There is a very close relationship between soil and water, so that both of these systems affect to each other simultaneously.

The present work was designed to improve the limited information currently existing about the behaviour of the most polar compounds which usually coexist with strongly hydrophobic compounds in soils contaminated by hydrophobic organic pollutants, such as polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). In such systems, considerably less attention is usually given to the fate of the more polar fraction compared to the predominant hydrophobic compounds, because the former constitutes a minor fraction. However, because they have greater water solubilities, compounds included in the hydrophilic fraction of pollutants can often display a greater potential for leaching, and consequently a greater risk of groundwater contamination, than those constituting the more hydrophobic fraction. In fact, several studies have shown greater concentrations of hydrophilic pollutants in groundwater of contaminated sites compared to those of hydrophobic pollutants.

Substituted aromatic hydrocarbons and degradation products such as low-molecular weight aromatic acids constitute an important group of compounds usually present in the hydrophilic fraction of PAH-contaminated soils. Three substituted aromatic hydrocarbons (benzofuran, dibenzofuran, and acridine) and two low-molecular weight aromatic acids (salicylic acid, and o-phthalic acid) were selected as representatives of such a group of compounds, and their behaviour in soil is reported in this work. For comparative purposes, data on the behaviour of the non-substituted PAH phenanthrene and the low-molecular weight, aromatic acid herbicide picloram are also included.

Experiments to characterize the sorption-desorption, persistence and leaching behaviour of the above-mentioned compounds in soils from different edaphoclimatic regions of Europe were conducted. Bioassays were also conducted using *Lepidium sativum* plants to show the potential ecotoxicity of the assayed compounds.

The results reported in this work are expected to improve the existing knowledge about the environmental fate of the more hydrophilic fraction of compounds present in contaminated soils, which is an issue that has been stressed as important in improving risk assessments and success evaluation of remediation technologies.



I. Introducción.

I.1. PRESENCIA DE CONTAMINANTES ORGÁNICOS EN EL SUELO.

I.1.1. Generalidades.

El *suelo* es una entidad natural, dinámica y viva con una influencia clave sobre el ecosistema. Tiene un papel fundamental en la reserva de agua para plantas y microorganismos y en la purificación del agua mediante la percolación a través de su matriz. El suelo es un importante recurso natural que necesita ser preservado y, si es posible, incrementar su calidad.

La *calidad del suelo* puede ser definida como la capacidad de funcionar en un ecosistema manteniendo la productividad biológica, la calidad medioambiental y promoviendo la salud de plantas, animales y humanos. El suelo tiende a mantener un equilibrio que se desarrolla naturalmente, sin embargo, este equilibrio puede alterarse fácilmente, especialmente por la intervención humana.

A pesar de que tres cuartas partes de la superficie terrestre están ocupadas por agua, sólo el 3% es dulce. De este 3%, el 2% se encuentra en forma de hielo en los polos y el restante 1% está en estado líquido en ríos, lagos y mantos subterráneos. Este agua es la única apta para el consumo humano. Esto hace que el agua, al igual que el suelo, sea un importante recurso natural que debe ser preservado. El suelo actúa como una barrera protectora de las aguas subterráneas impidiendo la llegada de contaminantes a las mismas. Esto nos da una idea de la estrecha relación que existe entre suelo y agua, de tal manera que al afectarse uno se afecta el otro.

Podríamos definir la *contaminación* de un suelo, desde un punto de vista ecológico, como la presencia de una o más sustancias en cantidad suficiente y con ciertas características para poder causar efectos indeseables en el ser humano, la vegetación, los animales, etc. Muchas de las actividades en las que se sustenta el desarrollo de una sociedad llevan implícita la liberación de contaminantes al suelo; actividades industriales, explotaciones mineras, agricultura y vertidos de residuos son algunas de las más importantes. Debido a la capacidad degradativa y amortiguadora del suelo en un principio se daba por hecho que el medioambiente se encargaba de eliminar estos compuestos; por ello, durante mucho tiempo, no se le prestó atención al destino de los residuos generados, pero debido al aumento de las actividades y al cambio de la composición de los residuos, el suelo comenzó a perder su capacidad reparadora.

La recuperación de suelos afectados por la presencia de contaminantes requiere un conocimiento profundo de las características del suelo así como de las de los contaminantes presentes. Ello permite la elección de las técnicas de recuperación más adecuadas de entre el gran número que han sido desarrolladas durante las últimas décadas y que pueden abordar el problema desde una perspectiva química, física, biológica o multidisciplinar.

La presente memoria se encuadra dentro de la escasa información existente acerca del comportamiento de las fracciones más polares presentes en suelos afectados por contaminantes orgánicos hidrofóbicos, en particular del tipo de los hidrocarburos aromáticos policíclicos. En tales suelos, mientras que el estudio y seguimiento de las fracciones más hidrofóbicas recibe a menudo una gran atención, el comportamiento de las fracciones más hidrofílicas, por ser minoritarias, es a menudo ignorado. Dentro de estas fracciones más hidrofílicas destacan los hidrocarburos aromáticos policíclicos sustituidos y productos de degradación como los ácidos aromáticos, cuyo comportamiento en suelos ha sido el objeto de este trabajo.

I.1.2. Hidrocarburos aromáticos policíclicos sustituidos (hetero-PAHs) y ácidos aromáticos como contaminantes orgánicos del suelo.

I.1.2.1. Presencia de hetero-PAHs en suelos.

Dentro de los contaminantes orgánicos que son liberados al suelo destacan los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) y sus análogos heterocíclicos (hetero-PAHs) que contienen nitrógeno, azufre u oxígeno en alguno(s) de sus anillos. La contaminación del suelo y las aguas por estos compuestos es un problema muy extendido en los países industrializados de forma que estos compuestos orgánicos representan la clase predominante de contaminantes en suelos cercanos a industrias petroquímicas (Meyer y Steinhart, 2001). Los vertidos de petróleo y sus derivados y los procesos pirolíticos, como los de combustión incompleta de la materia orgánica, contribuyen significativamente a la entrada de estos compuestos en el medio ambiente (Traulsen *et al.*, 1999). Otras entradas de estos contaminantes en el medio ambiente son debidas al tráfico automovilístico, las estaciones de servicio, emisiones de industrias, etc. (Motelay-Massei *et al.*, 2006).

Otra fuente importante de PAHs y hetero-PAHs es la creosota. Este es el nombre que recibe una variedad de productos: creosota de madera, creosota de alquitrán de hulla, alquitrán de hulla, residuo de alquitrán de hulla y volátiles del residuo de alquitrán de hulla.

Estos productos son mezclas de muchas sustancias químicas como los PAHs, fenoles y cresoles que se originan al quemar la madera de haya y otras maderas, carbón, o la resina del arbusto de creosota. Los suelos contaminados con creosota contienen cientos de compuestos orgánicos diferentes entre los que los PAHs constituyen alrededor de un 85%, los hetero-PAHs entre el 5-15%, los compuestos fenólicos entre el 1-10% y los hidrocarburos monoaromáticos menos de un 1% (Broholm *et al.*, 1999; Meyer *et al.*, 1999). La creosota es muy usada en diferentes procesos como son la producción de asfalto, impregnación de maderas para su preservación, etc. (Thomsen *et al.*, 1999).

Existen más de 100 tipos de PAHs diferentes, pero sólo 16 han sido clasificados por la Agencia de Protección del Medio Ambiente de los Estados Unidos (USEPA) como contaminantes prioritarios. Éstos son: naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo[a]antraceno, criseno, benzo[b]fluoranteno, benzo[a]pireno, dibenzo[a,h]antraceno, benzo[g,h,i]perileno e indeno[1,2,3-cd]pireno (Figura I.1). La selección de estos compuestos se ha basado en un número variado de factores como son su toxicidad, la facilidad de obtener información acerca de ellos, la exposición humana a estos compuestos a lo largo de la historia y su frecuente aparición en lugares contaminados.

No obstante, algunos autores creen insuficiente este número y proponen la inclusión en esta lista de otros contaminantes orgánicos como, por ejemplo, los hetero-PAHs (Figura I.2) (Meyer y Steinhart, 2000).

Para determinar el grado de contaminación de suelos contaminados con creosota se suelen llevar a cabo determinaciones de PAHs y BTEX (acrónimo de benceno, tolueno, etilbenceno y xileno), pero, sin embargo, los hetero-PAHs y los compuestos homocíclicos sustituidos, que constituyen más del 15% (Mueller *et al.*, 1989; Johansen *et al.*, 1997), no son analizados en los programas de seguimiento habitualmente. Debido a la presencia de heteroátomos, los hetero-PAHs tienen una solubilidad en agua mucho más elevada que sus correspondientes PAHs (Meyer *et al.*, 1999), lo cual da como resultado una mayor movilidad y biodisponibilidad en comparación con sus compuestos análogos no sustituidos. De hecho, es frecuente observar la presencia de hetero-PAHs en aguas subterráneas de sitios contaminados con creosota (Broholm *et al.*, 1999).

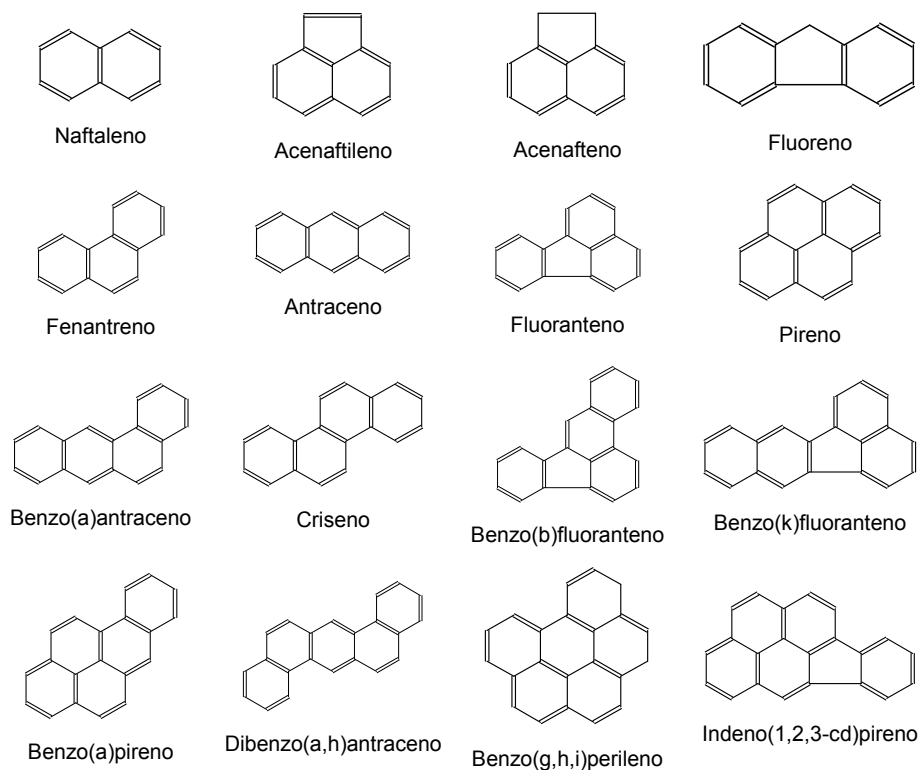


Figura I.1. Hidrocarburos aromáticos policíclicos clasificados como contaminantes prioritarios por la Agencia de Protección del Medio Ambiente de los Estados Unidos (USEPA).

Diferentes estudios han mostrado que la presencia de hetero-PAHs en los suelos puede producir un efecto inhibitorio sobre la degradación de los PAHs e hidrocarburos monoaromáticos, aumentado así su vida media y, por tanto, sus efectos tóxicos sobre el medio ambiente (Arcangeli y Arvin, 1995; Dyreborg *et al.*, 1996; Lantz *et al.*, 1997).

Cuando el agua entra en contacto con la creosota, los compuestos polares se enriquecen en la fase acuosa de forma que la fracción de hetero-PAHs se incrementa hasta un 30-40% mientras que la fracción de PAHs decrece hasta alrededor de un 15% (Kiilerich y Harbin, 1996; Broholm *et al.*, 1999). De hecho, se han detectado elevadas concentraciones de hetero-PAHs, como el tiofeno, benzotiofeno, dibenzotiofeno, benzofurano, dibenzofurano, piridinas, quinolonas, indol y carbazol, en aguas subterráneas próximas a sitios contaminados con creosota (Johansen *et al.*, 1997). Además, la adsorción de estos compuestos en el suelo es más débil en comparación con la de los compuestos no

sustituidos, aumentando así su biodisponibilidad y, consecuentemente, los riesgos ecológicos y los efectos sobre el ser humano. Las vías de exposición humanas a los PAHs son, por ejemplo, la aspiración de aire contaminado, la ingestión (bebidas y comida contaminada) y la absorción por la piel. Debido a su naturaleza hidrofóbica los PAHs pueden migrar atravesando las membranas lipídicas de la célula y pueden concentrarse en los tejidos grasos. En la actualidad está demostrada su bioacumulación en las plantas y en los animales, evidenciando su transferencia a la cadena alimentaria. Además de los PAHs, numerosos hetero-PAHs han mostrado efectos tóxicos, mutagénicos y cancerígenos, incluso cuando están en bajas concentraciones (Meyer *et al.*, 1999). Como ejemplo podemos citar el dibenzofurano, que aparece como contaminante en derivados del petróleo y alquitranes y también puede originarse en incendios en la naturaleza. Los animales y seres humanos quedan expuestos a este compuesto a través de fuentes secundarias como comidas, agua de bebida, inhalación y contacto con la piel (Gesell, *et al.*, 2004).

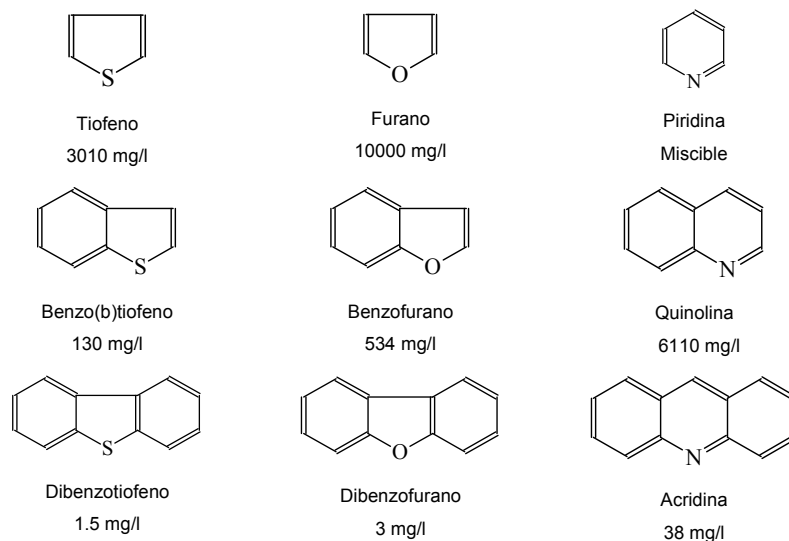


Figura I.2. Algunos hetero-PAHs y sus solubilidades en agua (USEPA).

A pesar de su extendida presencia en el medio ambiente y de tener una mayor movilidad y biodisponibilidad que sus análogos no sustituidos, se sabe muy poco acerca del comportamiento de los hetero-PAHs en el medio ambiente. De hecho, los compuestos heteroaromáticos que contienen nitrógeno, azufre u oxígeno en sus anillos aromáticos no se incluyen normalmente en los análisis químicos que se realizan en sitios contaminados. Los metabolitos de la degradación de la creosota, que en general son más hidrofílicos que los compuestos de partida, tampoco suelen ser analizados (Kailerich y Harbin, 1996). Por

ello, recientemente se ha apuntado la necesidad de detectar, identificar y evaluar el comportamiento de las fracciones más hidrofílicas presentes en los suelos contaminados con el fin de mejorar la evaluación de riesgos y el rendimiento de las estrategias de remediación (Langbehn y Steinhart, 1994; Meyer *et al.*, 1999; Vila *et al.*, 2003).

I.1.2.2. Presencia de ácidos aromáticos en suelos.

Los compuestos aniónicos representan un riesgo de contaminación particularmente alto debido a que, la mayoría de ellos, son débilmente retenidos por las partículas del suelo, aumentando así su capacidad de moverse a través del perfil del suelo. Las formas aniónicas de diferentes ácidos aromáticos se han encontrado en aguas subterráneas de diferentes regiones de Europa (Celis *et al.*, 1999; Dubus *et al.*, 2001).

La presencia de ácidos aromáticos en el suelo puede tener diferentes orígenes (Hong *et al.*, 2000; Cerniglia, 1991) (Figura I.3.):

- Vertidos y emisiones de diferentes industrias: refinerías, industrias químicas, etc.
- Agricultura: Pesticidas con carácter ácido, productos de degradación de pesticidas.
- Degradación de productos orgánicos en general, como por ejemplo los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs), compuestos heteroaromáticos, ftalatos, etc.

Un ejemplo de llegada al medio de ácidos aromáticos de bajo peso molecular lo tenemos en estudios llevados a cabo en 18 plantas de tratamiento de residuos en Canadá, donde se detectó la presencia de ácido salicílico en muchas de las aguas resultantes después de su tratamiento, con rango de concentraciones de 0.1 hasta 59.6 µg/l (Metcalf *et al.*, 2003). Es relativamente frecuente encontrar medicamentos (o sus metabolitos, como es el caso del salicílico) en ríos y arroyos cercanos a plantas de tratamientos de residuos (Metcalf *et al.*, 2003).

Por otra parte, algunos ácidos aromáticos pueden encontrarse en el suelo por causas naturales como exudados de raíces, restos de plantas, productos de descomposición microbiana, purines, etc. (Jones, 1998). De hecho, muchos ácidos aromáticos tienen una presencia significativa en plantas. Por ejemplo, estudios llevados a cabo en personas con diferentes hábitos alimenticios, vegetarianos y no vegetarianos, ninguno de ellos tomadores de ácido acetil salicílico, pusieron de manifiesto mayores concentraciones de ácido salicílico y ácido salicílico en la orina del grupo vegetariano,

achacando este resultado a que frutas y vegetales son una fuente importante de salicilatos (Lawrence *et al.*, 2003).

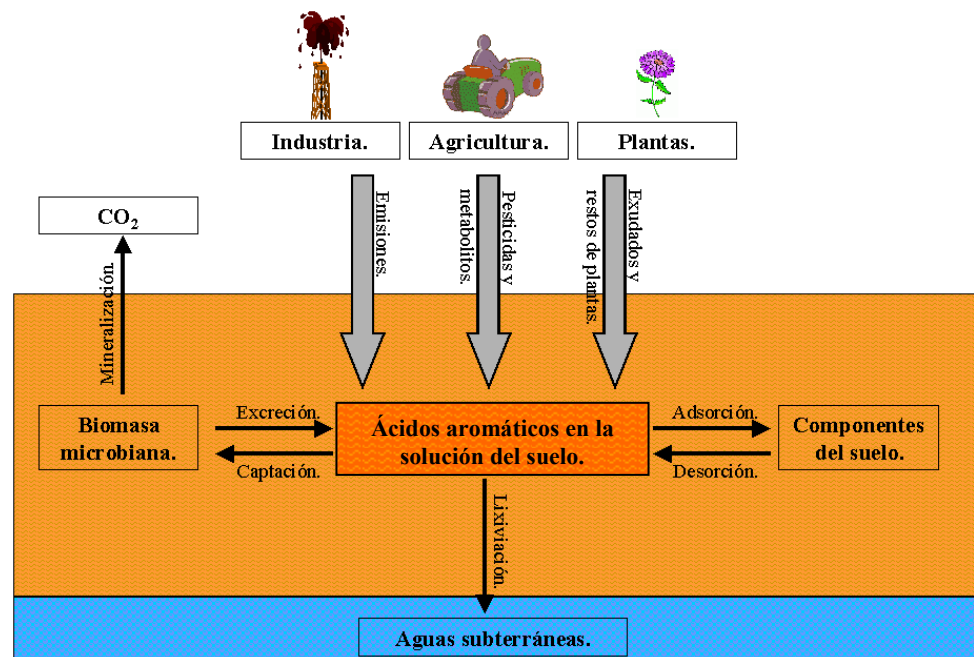


Figura I.3. Esquema del origen y comportamiento de ácidos aromáticos en el suelo.

En el contexto de este trabajo y como hemos mencionado anteriormente, muchos ácidos aromáticos son importantes como productos de degradación de otros compuestos orgánicos, aunque, a menudo, no se les suele prestar la misma atención que a sus productos de partida. Varios estudios, hechos la mayoría en EE.UU., sobre metabolitos ácidos de diferentes cloroacetanilidas dieron como resultado la presencia en aguas subterráneas de estos metabolitos con mayor frecuencia y en mayores concentraciones que sus compuestos de partida (Dagnac *et al.*, 2001). El ácido ftálico y el ácido salicílico son metabolitos intermedios de la degradación de muchos compuestos aromáticos. Se han encontrado en la degradación de PAHs (Cerniglia, 1991; Samanta *et al.*, 1999; Kacker *et al.*, 2002; van Herwijnen *et al.*, 2003), de compuestos aromáticos heterocíclicos (Hong *et al.*, 2000; Stope *et al.*, 2002), y de diésteres del ácido ftálico (Jonsson *et al.*, 2003). A pesar de que su persistencia en el suelo es supuestamente menor que la de sus compuestos de partida, estos metabolitos tienen un alto riesgo de contaminar aguas subterráneas debido a su alta solubilidad en agua y débil retención por el suelo. Así pues, pueden moverse

rápidamente por el perfil del suelo y llegar a las aguas subterráneas, donde pueden permanecer durante un largo periodo sin sufrir cambios (USPHS, 1992). Como ejemplo, el ácido *orto-ftálico*, producto de degradación del diéster del ácido ftálico, se encontró en lixiviados de 11 vertederos europeos en rango de concentración de 2 hasta 19000 µg/L, mientras que el rango de los diésteres de los que procedía fue de 1 hasta 460 µg/L (Jonsson *et al.*, 2003). De todo ello se deduce que, en ocasiones, los productos de degradación pueden tener una mayor capacidad para contaminar que sus compuestos de partida y, de ahí, la importancia de su estudio.

Dentro de la escasa información existente acerca de los compuestos que forman parte de la fracción más polar de suelos contaminados con hidrocarburos, en el presente trabajo hemos tratado de profundizar en el conocimiento del comportamiento en suelos de algunos compuestos representativos de dicha fracción. Los compuestos seleccionados han sido tres hetero-PAHs (benzofurano, dibenzofurano y acridina) y dos ácidos aromáticos (ácido salicílico y ácido *o-ftálico*), para los que se ha estudiado su adsorción, persistencia y lixiviación en suelos con diferentes propiedades fisicoquímicas. En el estudio con ácidos aromáticos se ha incluido al herbicida picloram como molécula modelo de ácido aromático con un alto potencial de lixiviación, consecuencia de su elevada persistencia y baja adsorción a suelos. Por último, se han realizado ensayos de toxicidad hacia plantas con el fin de ilustrar la posible ecotoxicidad de los compuestos estudiados.

Antes de presentar y discutir los resultados obtenidos en este trabajo, se incluye una breve introducción acerca de los principales factores que afectan a la dinámica de los contaminantes orgánicos en el suelo, resaltando aquellos que afectan en mayor medida a los que son objeto de estudio en este trabajo.

I.2. DINÁMICA DE LOS CONTAMINANTES ORGÁNICOS EN EL SUELO.

La presencia de contaminantes orgánicos en el suelo puede tener diferentes orígenes, como hemos visto anteriormente, y una vez en el suelo estas sustancias se ven afectadas por distintos procesos que determinan su dinámica y destino final en el suelo. Estos procesos, que pueden ser de tipo físico, químico y biológico, se pueden dividir en dos grupos (Tabla I.1.):

1. *Procesos de transferencia o transporte*: son aquellos en los que el compuesto se desplaza de un medio a otro o dentro de un mismo medio sin experimentar cambio en su estructura y, por tanto, sigue siendo potencialmente contaminante. Entre ellos destacamos: adsorción-desorción, volatilización, lixiviación, escorrentía, absorción y difusión.
2. *Procesos de transformación*: son aquellos por los que el compuesto se transforma o degrada dando nuevos compuestos que pueden ser de igual, menor o mayor toxicidad. Entre ellos cabe destacar: degradación química, biodegradación y fotodegradación.

Tabla I.1. Procesos que determinan la dinámica de los contaminantes orgánicos en el suelo.

Procesos	
<i>Transferencia o transporte</i>	Adsorción-desorción
	Volatilización
	Lixiviación
	Escorrentía
	Absorción
	Difusión
<i>Transformación o degradación</i>	Degradación química
	Biodegradación
	Fotodegradación.

Estos procesos están interrelacionados entre sí (Figura I.4), dándose conjuntamente y siendo el resultado la suma de todos ellos. Uno de los procesos más importantes es la adsorción, que va a determinar la cantidad de contaminante que queda en la disolución del suelo y sobre la que se darán el resto de procesos.

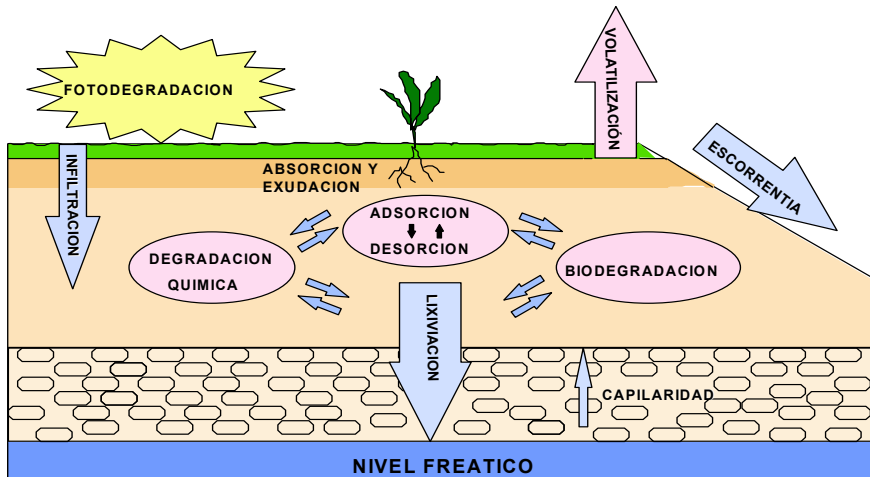


Figura I.4. Interrelación entre los procesos que determinan la dinámica de los contaminantes orgánicos y sus metabolitos en el suelo.

I.2.1 Adsorción-desorción.

La *adsorción* puede definirse como el paso de un compuesto desde la fase acuosa del suelo (o en casos de extrema aridez desde la fase gaseosa) a la superficie de las partículas sólidas sin producir cambios en la composición de estas últimas, siendo la *desorción* el proceso inverso (Osgerby, 1970). El *adsorbato* es el compuesto que se une a la fase sólida, mientras que el *adsorbente* es la fase sólida en sí. En el caso del suelo la adsorción se suele dar en la interfase líquido-sólido, donde el adsorbente sería el propio suelo y las moléculas orgánicas actuarían como adsorbato.

Las interacciones entre adsorbente y adsorbato pueden ser interacciones *químicas* y/o *físicas* entre las que podemos citar: fuerzas de van der Waals, enlace de hidrógeno, transferencia de carga, enlace iónico, cambio de ligando e interacciones hidrofóbicas. También podemos dividir las interacciones en *inespecíficas*, dentro de las cuales encontramos a las fuerzas de van der Waals y *específicas* donde se encuentran los enlaces covalentes, de coordinación, etc.

En el proceso de adsorción de una molécula pueden intervenir varios tipos de interacciones, en cuyo caso el resultado final es la suma de todas ellas. Cada una de ellas interviene en una proporción diferente dependiendo de las características del suelo y de la molécula. Bi *et al.* (2006) proponen un modelo teórico para la adsorción de una molécula a suelos en el que se tienen en cuenta las principales interacciones que intervienen y su contribución al resultado final:

$$K_d = K_{d,part} + K_{cat.} + K_{d,esp.}$$

donde, K_d es el coeficiente de adsorción de la molécula dado como la razón entre la concentración de ésta en el suelo y la concentración libre en la disolución, $K_{d,part}$ es la adsorción de la molécula al suelo debido al contenido en materia orgánica, relacionada con su coeficiente de partición, $K_{cat.}$ es la adsorción debida al mecanismo de intercambio catiónico de la forma cargada de la molécula y $K_{d,esp.}$ se refiere a la adsorción debida a mecanismos específicos (frecuentemente complejación) de la forma neutra de las moléculas ionizables o no ionizables.

La *adsorción* es uno de los procesos más importantes de todos los que se pueden dar en el suelo porque va a determinar la cantidad de sustancia que queda libre y sobre la que van a actuar los demás procesos. Según Calvet (1989), la adsorción es el proceso clave que controla el transporte, la transformación química y los procesos biológicos que se van a dar sobre los compuestos orgánicos.

La *desorción*, como hemos dicho, es el paso del adsorbato del estado adsorbido a la fase líquida o gaseosa. La desorción puede ser total, en cuyo caso se habla de *adsorción reversible*, o parcial, cuando una parte del adsorbato se une de manera *irreversible*. Ejemplos de adsorción irreversible lo encontramos en el trabajo de Cecchi *et al.* (2004) sobre adsorción y desorción de ácidos fenólicos (ácidos p-coumárico y ferúlico) sobre 7 suelos con diferentes características.

La adsorción y la desorción son procesos dinámicos y se dan continuamente y a la vez, es decir, las moléculas orgánicas se están adsorbiendo y desorbiendo constantemente siendo el resultado final la suma de ambos procesos (Figura I.5).

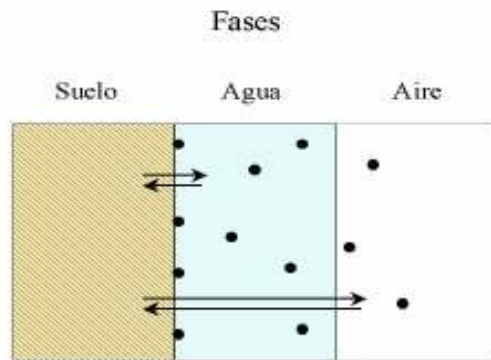


Figura I.5. Dinámica de los compuestos orgánicos entre las distintas fases del suelo.

I.2.1.1. Medidas de adsorción: isotermas.

Los métodos utilizados para estudiar la adsorción han de ser reproducibles y comparables para que los valores obtenidos puedan ser estudiados y valorados entre sí.

El método más usado es la obtención de isotermas, mediante el cual podemos comparar compuestos diferentes en un mismo suelo o suelos diferentes frente a un mismo compuesto y en diferentes condiciones. El uso de esta técnica nos da una valiosa información para poder predecir el comportamiento del contaminante en el suelo (Enell *et al.*, 2005).

La obtención de una isoterma de adsorción consiste en poner en contacto distintas disoluciones de un compuesto con una cantidad determinada de suelo. Una vez alcanzado el equilibrio, se centrifuga y se mide el compuesto que queda en el sobrenadante, lo que puede hacerse por diferentes técnicas como espectroscopía UV-visible, HPLC, centelleo líquido (^{14}C), etc. De esta manera, obtenemos la concentración de compuesto que no está unida al suelo (C_e). Para calcular la concentración de compuesto adsorbido al suelo (C_s) lo podemos hacer por métodos directos, es decir, extrayendo y midiendo la cantidad presente en el suelo, o bien, por métodos indirectos, a partir de la C_e por diferencia con la concentración inicial utilizada.

El estudio de la desorción suele llevarse a cabo mediante “extracciones sucesivas”, por las que se va sustituyendo parte del sobrenadante por una disolución extractante libre

del compuesto a estudiar, se agita y se deja equilibrar. Esta operación se repite varias veces sucesivamente.

Las isothermas de adsorción son representaciones de C_s en función de C_e . La forma de la isoterma obtenida es muy importante porque nos proporciona información acerca del mecanismo de adsorción. Según Giles *et al.* (1960), la mayoría de las isothermas de adsorción de compuestos orgánicos se ajustan a algunos de los cuatro tipos siguientes (Figura 1.6):

1. Isoterma tipo S: Este tipo de isoterma tiene dos partes: la primera parte, de baja pendiente, donde las moléculas de soluto compiten con las moléculas de disolvente, y una segunda parte, con una pendiente alta, que indica que hay atracción entre las moléculas de soluto adsorbidas favoreciendo las moléculas adsorbidas la adsorción del resto de moléculas de soluto que queda en la disolución.
2. Isoterma tipo L: La alta pendiente inicial de este tipo de curvas indica una gran afinidad del soluto por el adsorbente y una mínima competencia entre las moléculas de disolvente y las de soluto por los sitios de adsorción. La disminución de la pendiente en la última parte de la curva nos indica que los sitios de adsorción están casi todos ocupados y, aunque aumentemos la concentración de soluto, no tendremos cambios apreciables en la cantidad adsorbida.
3. Isoterma tipo H: Son un caso especial de las tipo L. Indican una afinidad muy alta entre el soluto y el adsorbente de forma que la adsorción es total incluso a concentraciones muy bajas de soluto.
4. Isoterma tipo C: En estas isothermas la cantidad adsorbida al adsorbente es directamente proporcional a la concentración de soluto que hay en la disolución. Recuerda al reparto de un soluto en dos líquidos inmiscibles; por ello a menudo se usa el término "partición" o "disolución del soluto" en el sólido para referirse a este tipo de isothermas.

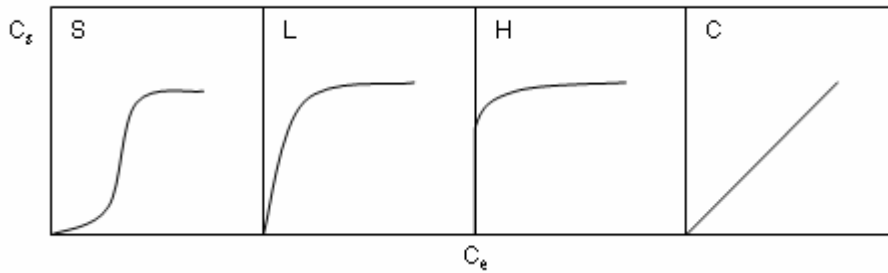


Figura I.6. Tipos de isothermas de adsorción según Giles *et al.* (1960).

Hay varias ecuaciones a las que se suelen ajustar las isothermas de adsorción de compuestos orgánicos a suelos y sus componentes. Entre ellas destacan la ecuación de Langmuir y la de Freundlich. Nosotros utilizaremos la segunda que es la que define mejor los parámetros de adsorción en sistemas heterogéneos como los suelos. Esta ecuación es empírica, al contrario que la de Langmuir que es teórica.

Ecuación de Freundlich:

$$C_s = K_f \cdot C_e^{n_f}$$

$$\text{Log } C_s = \text{Log } K_f + n_f \cdot \text{Log } C_e$$

donde :

C_s : Concentración de soluto adsorbido.

C_e : Concentración de soluto en la disolución una vez alcanzado el equilibrio.

K_f : Constante que coincide con la cantidad de soluto adsorbido cuando la concentración en la disolución de equilibrio es 1.

n_f : Constante relacionada con la forma de la isoterma.

$$n_f = 1 \text{ Tipo C}$$

$$n_f < 1 \text{ Tipo L}$$

$$n_f > 1 \text{ Tipo S}$$

Cuando la adsorción se evalúa a una única concentración, puede obtenerse la constante de equilibrio, K_d , como la razón entre C_s y C_e . Esta constante de equilibrio es única para cada compuesto a unas condiciones determinadas y a una concentración dada y

nos va a dar la posibilidad de comparar la adsorción de diferentes compuestos a un mismo suelo o de un mismo compuesto a diferentes suelos a dicha concentración.

Cuando el camino seguido por la desorción no es igual que el de la adsorción se produce el fenómeno de histéresis. Algunas de las causas de la histéresis son:

- No se alcanza el equilibrio durante la adsorción o desorción.
- Se eliminan partículas sólidas durante la desorción.
- Cambios del pH durante la desorción.
- Degradación del compuesto.
- Cristalización del compuesto.
- Formación de enlaces irreversibles.

I.2.1.2. Factores que influyen en la adsorción.

Los principales factores que afectan a la adsorción de compuestos orgánicos al suelo pueden dividirse en 4 grupos: los relativos al suelo, los que dependen del adsorbato, los relativos a la disolución del suelo y otros.

I.2.1.2.1. Relativos al suelo: composición coloidal del suelo.

Los componentes coloidales del suelo, también conocidos como fracción arcilla, son las partículas de tamaño inferior a 2 μm y son los principales responsables de las interacciones entre el suelo y los compuestos orgánicos, debido a su alta superficie específica y reactividad superficial. Los componentes coloidales del suelo están compuestos por una fracción coloidal inorgánica y por otra fracción coloidal orgánica.

La *fracción coloidal inorgánica* está compuesta fundamentalmente por silicatos laminares o filosilicatos y por óxidos, hidróxidos y oxihidróxidos de distintos metales, fundamentalmente de hierro y aluminio.

Los *silicatos laminares* están formados por diferentes láminas apiladas, cada una de estas láminas compuestas a su vez por capas de unidades tetraédricas Si-O y unidades octaédricas Al-(O-OH) ó Mg-(O-OH). Según se dispongan estas capas dentro de las láminas existen distintos tipos de filosilicatos:

Minerales 1:1. Se condensan una capa tetraédrica con una capa octaédrica para constituir la lámina. Las láminas se unen mediante puentes de hidrógeno O-OH. Este tipo de mineral puede ser neutro o tener una pequeña carga negativa consecuencia de *sustituciones isomórficas*, que se producen al ser sustituido el Si^{4+} por un átomo de similar tamaño pero de carga menor, como el Al^{3+} o el Fe^{3+} . Dentro de este tipo podemos nombrar el grupo de las caolinitas y serpentinas.

Minerales 2:1. La estructura básica está formada por una capa octaédrica entre 2 capas tetraédricas. Las láminas se mantienen unidas por fuerzas de van der Waals entre átomos de O de capas adyacentes. En los minerales 2:1 son más frecuentes las sustituciones isomórficas, lo que origina una carga negativa permanente que se compensa con cationes que se colocan entre las láminas: son los llamados *cationes interlaminares*. Los cationes interlaminares son los que dan al filosilicato una de sus propiedades más importantes, la capacidad de intercambio catiónico (CIC), es decir, la posibilidad de sustituir los cationes que se encuentran compensando la carga negativa por otros presentes en la disolución del suelo. Dependiendo de donde se produzca la sustitución isomórfica (capa tetraédrica u octaédrica) y de los cationes interlaminares presentes aparecen distintas especies minerales. En este tipo podemos distinguir los grupos de la pirofilita-talco, esmectitas, vermiculitas, illitas y micas.

La Figura I.7 representa un esquema de los tipos de filosilicatos descritos anteriormente.

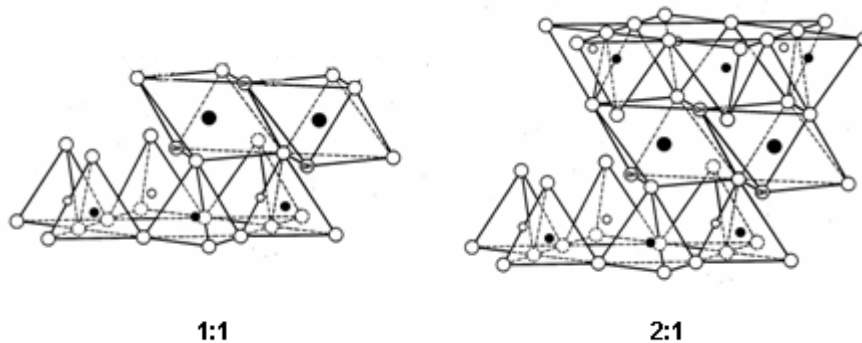


Figura I. 7. Estructura de los filosilicatos tipo 1:1 y 2:1.

Dentro de la fracción coloidal inorgánica están también los *óxidos metálicos* que son importantes por su alta superficie específica y alta reactividad superficial. La carga

superficial es variable y depende del pH, por lo que pueden fijar tanto cationes como aniones. A pHs habituales en suelos la carga superficial es positiva tendiendo a fijar aniones como son los productos de la disociación de los ácidos aromáticos. Dubus *et al.* (2001) sugiere la posibilidad de que las superficies cargadas de los óxidos metálicos están implicadas en la adsorción del ácido salicílico y del pesticida clofencet a suelos, especialmente en ferrosols. Esta adsorción está muy influenciada por el pH.

Los óxidos metálicos pueden presentarse en el suelo con diferentes grados de cristalinidad. Dentro de los óxidos metálicos, los más abundantes son los óxidos de hierro.

La *fracción coloidal orgánica* se puede dividir en sustancias no húmicas y húmicas.

Las sustancias *no húmicas* son restos de plantas y animales que son fácilmente degradados por los microorganismos dando las sustancias húmicas. Debido a esta facilidad para degradarse su tiempo de vida media es corto.

Las sustancias *húmicas* o *humus* son más estables y tienen una vida media mayor. Tienen una estructura química compleja y amorfa, son de carácter ácido, oscuro y de alto peso molecular. Están constituidas por un esqueleto policíclico aromático compuesto por heterociclos nitrogenados, quinonas, fenoles, ácidos benzóicos, uniéndose a esta estructura cadenas alifáticas. Las sustancias húmicas presentan grupos funcionales muy numerosos y variados como carboxílicos, carbonilos, hidroxilos, tioles, aminos, sulfónicos, etc.

Según el comportamiento del humus frente a distintos extractantes obtenemos distintas fracciones (Figura I.8):

- Huminas: es la fracción insoluble que queda tras tratar el humus con NaOH. Son insolubles en medio ácido y alcalino. Una vez separadas las huminas, un tratamiento ácido con HCl permite separar:
- Ácidos fúlvicos: que son solubles en medio ácido y alcalino.
- Ácidos húmicos: que son solubles en medio alcalino pero insolubles en medio ácido.

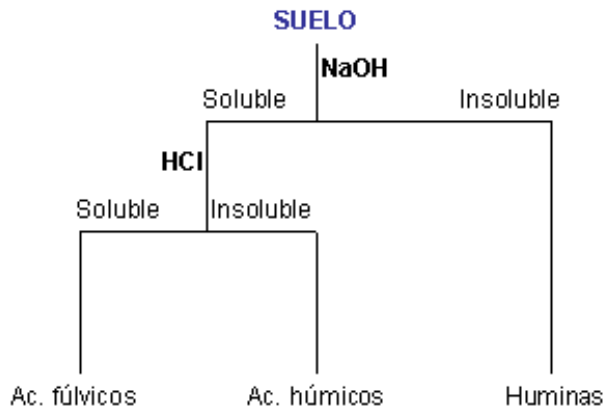


Figura I.8. Extracción de las fracciones orgánicas del suelo.

La carga de las sustancias húmicas es variable dependiendo del pH. Normalmente las sustancias húmicas suelen tener carga negativa debido a la disociación de los grupos funcionales de carácter ácido como los grupos carboxílicos y fenólicos, lo que les confiere una capacidad de intercambio catiónico (CIC). Pero en suelos muy ácidos pueden tener cargas positiva pudiendo adsorber en este caso sustancias de carácter aniónico.

En medio acuoso, las sustancias húmicas adoptan una estructura esférica resguardando en el interior las partes hidrófobas y presentando hacia el exterior las partes hidrófilas (Oades, 1989). Los solutos apolares se unen en las partes hidrofóbicas y los polares en las hidrofílicas. Los coloides orgánicos son los responsables en gran medida de la adsorción de las sustancias hidrofóbicas sin cargas, de manera que existe una correlación entre su adsorción y la cantidad de materia orgánica del suelo. Por ello, la adsorción de compuestos orgánicos no polares a suelos y sedimentos depende, en gran medida, del contenido en carbono orgánico (Grathwohl, 1990; Chiou, 2002).

Teniendo en cuenta las características estructurales de los tres componentes coloidales mayoritarios del suelo (filosilicatos, óxidos y sustancias húmicas) podemos decir que, individualmente, los óxidos son los que tienen mayor capacidad para la adsorción de ácidos aromáticos, ya que a los pH habituales en suelos presentan cargas positivas. Esto se pone de manifiesto en el trabajo de Celis *et al.* (1999), donde se estudia la adsorción del herbicida ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) (Figura I.9) a componentes coloidales individuales y a diferentes asociaciones sintéticas entre éstos. La Tabla I.2. recoge los coeficientes de adsorción K_d obtenidos para los componentes coloidales individuales principales.

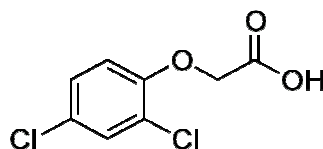


Figura I.9. Estructura molecular del herbicida 2,4-D.

Tabla I.2. Resultados de la adsorción de 2,4-D a los principales componentes de la fracción coloidal del suelo (Celis *et al.*, 1999).

	Filosilicato (Montmorillonita)	Óxido de hierro (Ferrihidrita)	Ácido húmico
$K_d(l/kg)$	<0	409	60

No obstante, la capacidad de adsorción de los óxidos puede verse atenuada por su unión a los filosilicatos y a las sustancias húmicas, pasando a tener una gran importancia en la adsorción la asociación entre los componentes individuales del suelo (Celis *et al.* 1999).

La importancia de los constituyentes minerales del suelo en la adsorción de compuestos iónicos o de alta polaridad se pone de manifiesto en los trabajos de Dubus *et al.* (2001), con ácidos aromáticos débiles, en concreto clofencet y ácido salicílico. Se observó que la adsorción aumentaba al disminuir la materia orgánica del suelo y, a su vez, se vio un efecto positivo sobre la adsorción de las superficies cargadas de los óxidos metálicos.

Los PAHs son contaminantes que se caracterizan por tener una baja solubilidad en agua y un coeficiente de partición octanol/agua alto (Mackay *et al.*, 1992). Los PAHs que se encuentran en medios acuosos tienen tendencia a unirse a la materia orgánica de suelos y sedimentos, donde pueden permanecer por un largo periodo de tiempo, sufriendo un periodo de envejecimiento. Mientras más envejecido esté el contaminante más difícil es su extracción y, por tanto, su biodegradación, lo que también puede conllevar una disminución de su riesgo tóxico (Shor *et al.*, 2003). La adsorción preferente de los PAHs a las sustancias húmicas de los suelos fue estudiada en los trabajos de Celis *et al.* (2006) donde se evaluó la adsorción de fenantreno (Figura I.10) a componentes coloidales individuales y a sus asociaciones. Los resultados de las adsorciones a los componentes individuales están recogidos en la Tabla I.3.

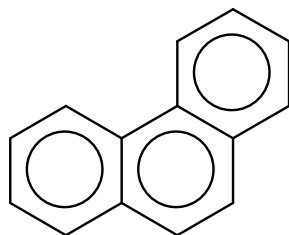


Figura I.10. Estructura molecular de fenantreno.

Tabla I.3. Resultados de la adsorción de fenantreno a los principales componentes de la fracción coloidal del suelo (Celis *et al.*, 2006).

	Filosilicato (Montmorillonita)	Óxido de hierro (Ferrihidrita)	Ácido húmico
$K_d(l/kg)$	2	<1	5363

Al igual que en el caso de la adsorción de ácidos aromáticos a los óxidos de hierro, la capacidad de adsorción de las sustancias húmicas se ve atenuada por su unión a las arcillas y a los óxidos (Celis *et al.*, 1997; Celis *et al.*, 2006).

En lo que respecta a los compuestos objetos de estudio en este trabajo es de esperar que en la adsorción de los ácidos aromáticos de bajo peso molecular a los coloides del suelo jueguen un papel destacable los componentes inorgánicos. Por el contrario, en el caso de los hetero-PAHs, la materia orgánica debe jugar un papel relevante en su adsorción, si bien la presencia de heteroátomos en estos compuestos actuaría incrementando la polaridad y, por tanto, aumentando su afinidad por los componentes minerales.

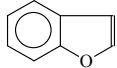
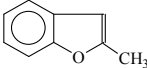
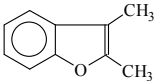
I.2.1.2.2. Naturaleza del adsorbato.

Las características físico-químicas del contaminante orgánico tienen una gran influencia en su adsorción a los coloides del suelo. Entre estas características podemos destacar:

Grupos funcionales: La presencia de determinados grupos funcionales puede aumentar la afinidad del contaminante por la superficie del suelo. También pueden jugar un papel importante los grupos funcionales y átomos que no intervienen directamente en la interacción, ya que pueden influir en la polaridad, capacidad donadora o aceptora de electrones, pueden impedir estéricamente la unión, etc.

La influencia de la presencia de grupos funcionales en la adsorción queda reflejada en el trabajo de Bi *et al.* (2006). En él se estudia la adsorción de diferentes hetero-PAHs a 5 suelos de referencia europeos. Los autores, entre sus conclusiones, afirman que la presencia de grupos metilos o anillos de benceno en S- u O- hetero-PAHs no ionizables de la misma clase aumenta la adsorción de los mismos a los suelos. En la Tabla I.4 se ilustran algunos de los resultados obtenidos por los autores.

Tabla I.4. Coeficientes de adsorción, K_d (l/kg), obtenidos para benzofurano, 2-metilbenzofurano y 2,3-dimetilbenzofurano en 5 suelos de referencia europeos (Bi *et al.*, 2006).

Compuestos	Estructura	Eurosoil 1	Eurosoil 2	Eurosoil 3	Eurosoil 4	Eurosoil 5
Benzofurano		0.57	1.27	2.03	0.61	1.77
2-metilbenzofurano		1.20	3.01	4.56	1.35	3.46
2,3-dimetilbenzofurano		4.02	8.81	12.0	3.71	- [†]

[†]: debido a la alta adsorción al suelo no se pudo determinar con precisión su K_d .

Carga molecular: En general, podemos decir que los contaminantes aniónicos son atraídos por superficies con carga positiva como las de los óxidos metálicos, mientras que son repelidos por las cargas negativas de los filosilicatos y las sustancias húmicas. Esto hace que los compuestos aniónicos, como pueden ser las moléculas con carácter ácido ionizadas, tengan una baja adsorción a suelos y, por tanto, una alta movilidad. Por el contrario, los contaminantes catiónicos son atraídos por las superficies con carga negativa. En el caso de las sustancias ionizables, que tendrán distinta carga dependiendo de su pK_a o pK_b y el pH de la disolución del suelo, la adsorción dependerá de estos parámetros. Grupos aniónicos como carboxilatos y fenolatos pueden estar presentes en este tipo de sustancias y no se observa normalmente una correlación entre el contenido en materia orgánica del suelo y su adsorción (Ukrainczyk y Ajwa, 1996). Las diferentes formas (ionizada y no ionizada) de este tipo de compuestos se adsorben por diferentes mecanismos (Calvet, 1989).

Los compuestos no iónicos con una determinada polaridad o polarizables son atraídos hacia el suelo por las interacciones dipolo-dipolo que se crean con los coloides del mismo. Los compuestos no iónicos de baja polaridad son atraídos por los componentes del suelo mediante interacciones hidrofóbicas.

En los hetero-PAHs no ionizables las interacciones no específicas (fuerzas de van der Waals) debería prevalecer en su adsorción a los suelos. Respecto a los hetero-PAHs ionizables, que muestran cierta polaridad, otras interacciones pueden jugar un papel importante en su adsorción a suelos (Bi *et al.*, 2006). Estudios de adsorción de hetero-PAHs nitrogenados a suelos han mostrado que para la forma protonada de quinolina (Ainsworth *et al.*, 1987; Zachara *et al.*, 1988), piridina (Zachara *et al.*, 1987; Zhu *et al.*, 2003) y 2-metilpiridina (O'Loughlin *et al.*, 2000), el intercambio catiónico es la interacción predominante.

Tamaño molecular: El tamaño molecular juega un doble papel en las interacciones entre el contaminante y el suelo. Una molécula voluminosa puede favorecer la unión debido a que aumente la superficie de contacto entre ambos y, por lo tanto, sus interacciones, pero por otro lado, puede no ser capaz de llegar a determinados sitios de adsorción situados en microporos debido a su tamaño molecular.

Solubilidad en agua: El efecto de la solubilidad sobre la adsorción puede ser variable, e incluso, contradictorio. En general, podemos decir que los contaminantes que se unen a los componentes minerales tienen una mayor adsorción cuanto más polares y solubles son. Si el compuesto se une a la materia orgánica del suelo se da la relación contraria, es decir, se adsorbe más cuanto más insoluble es.

I.2.1.2.3. Características de la disolución del suelo.

El *pH* es una de las propiedades más importantes, ya que va a determinar la carga del contaminante y de los componentes con carga variable del suelo. Son muchos los contaminantes con características ácido-base que, dependiendo del *pH* de la disolución del suelo y de su pK_a o pK_b , tendrán una determinada carga. Por ejemplo, la mayor adsorción de las bases orgánicas suele tener lugar en el rango de *pH* correspondiente al pK_a de las mismas (Thomsen *et al.*, 1999).

La *fuerza iónica* de la disolución del suelo es un factor a tener en cuenta para moléculas iónicas, ya que al aumentar la fuerza iónica disminuye la adsorción al darse un fenómeno de competencia. Para moléculas neutras el comportamiento es variable y no existe una tendencia general.

I.2.1.2.4. Otros factores.

La *temperatura* es un factor que también puede afectar a la adsorción. En general, al aumentar la temperatura disminuye la adsorción, debido a que ésta es un proceso exotérmico, y aumenta la desorción al ser ésta un fenómeno endotérmico. Pero en adsorciones lentas puede producirse el efecto contrario: al aumentar la temperatura, aumenta el coeficiente de difusión de las moléculas pudiéndose acelerar la adsorción.

La *humedad*, en general, al disminuir aumenta la adsorción de los contaminantes orgánicos. Este hecho se puede explicar de dos maneras, bien porque al disminuir la cantidad de agua quedan más sitios libres de unión para el contaminante orgánico que antes estaban bloqueados por las moléculas de agua, o bien porque al unirse las moléculas de agua y las de contaminante orgánico a los mismos sitios, al disminuir la humedad, el contaminante encuentra menos competencia. Sin embargo, a veces, una disminución de la humedad también puede tener como consecuencia una disminución de la adsorción. Esto puede explicarse teniendo en cuenta que los contaminantes orgánicos, en general, son poco solubles en agua y al disminuir la humedad estamos favoreciendo la cristalización o precipitación del compuesto, quedando menos disponible para adsorberse.

Al aumentar el *tiempo de residencia* del contaminante orgánico en el suelo aumenta también la adsorción, ya que al aumentar el tiempo de contacto entre el contaminante orgánico y el suelo pueden ocuparse sitios de adsorción de difícil acceso o elevada energía de activación.

I.2.2. Lixiviación.

La lixiviación es el transporte de un compuesto a lo largo del perfil del suelo debido a la influencia del agua de lluvia o riego. Compuestos con una alta movilidad tienen una alta probabilidad de contaminar las aguas subterráneas.

I.2.2.1. Principales factores que afectan a la lixiviación.

Los principales factores que afectan a la lixiviación son: la adsorción por los coloides del suelo, las características físico-químicas del contaminante, las características del suelo y la intensidad y frecuencia del agua de lluvia o riego. A continuación vamos a desarrollar detalladamente estos factores.

I.2.2.1.1. Adsorción por los coloides del suelo.

La lixiviación de una sustancia depende, en gran medida, de su adsorción a los coloides del suelo, de tal manera, que al aumentar ésta disminuye la movilidad y, por tanto, la lixiviación. La adsorción es uno de los principales procesos que van a determinar la disponibilidad y el destino de los contaminantes orgánicos en suelos y sedimentos. Si se produce el fenómeno de desorción la capacidad de movilizarse se recupera, aumentando así el riesgo de lixiviación.

Se sabe que un aumento del tiempo de contacto entre los contaminantes orgánicos y el suelo disminuye la movilidad de los mismos (Alexander, 2000; Northcott y Jones, 2000). Los PAHs, en este sentido, son considerados relativamente inmóviles y persistentes en suelos y sedimentos (Enell *et al.*, 2005). También hay una influencia directa de la temperatura en la adsorción, de tal modo que para la mayoría de los compuestos orgánicos hidrofóbicos, como los PAHs, existe una relación inversa entre la temperatura y los coeficientes de equilibrio de adsorción (Schwarzenbach *et al.*, 1993). Enell *et al.* (2005) estudiaron la influencia de la temperatura en la lixiviación de 5 PAHs (fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno y pireno) en un suelo contaminado con PAHs, obteniendo resultados que indicaban que la desorción y, por tanto, la lixiviación disminuían con la bajada de la temperatura. Extrapolando los resultados obtenidos, los autores afirman que cabe esperar mayores concentraciones de contaminantes en los lixiviados de suelos contaminados que se encuentran en climas más cálidos comparados con los que se hallan en climas más fríos.

La materia orgánica es el factor más importante en la retención de sustancias no polares, pudiéndose estimar la adsorción en función del compuesto y el contenido en materia orgánica del suelo (Green y Karickhoff, 1990). De hecho, diversos autores utilizan la afinidad de un compuesto por la materia orgánica del suelo para predecir el riesgo de lixiviación. Por ejemplo, Kearney *et al.* (1997) utilizan la afinidad por la materia orgánica expresada como K_{oc} para predecir el riesgo de lixiviación de una molécula, de tal modo que compuestos con valores de K_{oc} inferiores a 500 tienen un riesgo elevado de lixiviar, mientras que compuestos con valores superiores a 500 presentan un riesgo bajo de lixiviación. Gustafson (1989) se basa en el valor de K_{oc} y en el tiempo de vida media ($t_{1/2}$) de un compuesto para calcular el índice GUS cuya fórmula es:

$$GUS = \log(t_{1/2}) \cdot [4 - \log(K_{oc})]$$

Valores del índice GUS superiores a 2.8 indican un riesgo alto de lixiviación, mientras que para valores inferiores a 1.8 el riesgo de lixiviación sería bajo.

En el caso de los compuestos muy hidrofóbicos, como los PAHs, es de esperar que la afinidad por la fracción coloidal del suelo aumente al aumentar el contenido en materia orgánica de la misma y también al aumentar el peso molecular del compuesto (Villholt, 1999), lo que conduciría a una menor lixiviación. La presencia de heteroátomos actuaría aumentando la polaridad y, por tanto, la solubilidad en agua de estos compuestos y disminuyendo su afinidad por la materia orgánica, lo que podría suponer un incremento del riesgo de lixiviación. No obstante, también habría que considerar el establecimiento de interacciones de tipo polar con la materia orgánica y los componentes minerales, posibilitada por la presencia de heteroátomos en la molécula, así como la posibilidad de ionización.

La mayoría de los contaminantes catiónicos tienen tendencia a ser fuertemente retenidos por los elementos del suelo por mecanismos como el intercambio catiónico y no suelen ser encontrados en altas concentraciones en aguas subterráneas. Por el contrario, los contaminantes aniónicos o con características ácidas, como los ácidos aromáticos, aunque tienen cierta tendencia a ser retenidos por algunos componentes del suelo (filosilicatos y sesquióxidos), en general presentan una gran movilidad y a menudo son encontrados en grandes concentraciones en aguas subterráneas (Tanji y Valoppi, 1989).

Transporte facilitado:

Existe un caso especial que es el de *transporte facilitado*, por el que se transportan en suspensión las sustancias unidas a los coloides. Este tipo de transporte cobra más importancia en los casos en que las partículas coloidales en suspensión son muy abundantes, los compuestos son fuertemente adsorbidos a los coloides y en compuestos con baja solubilidad en agua.

Además de los coloides minerales del suelo existen otras sustancias que pueden actuar aumentando el transporte de los compuestos orgánicos (Mackay y Gschwend, 2001). Entre estas sustancias podemos nombrar: sustancias húmicas (Chiou *et al.*, 1986; Magee *et al.*, 1991), partículas minerales cubiertas con materia orgánica (Schlautman y Morgan, 1993), surfactantes o micelas antropogénicas (Bury y Miller, 1993; Pennell *et al.*, 1993), microorganismos (por ejemplo, bacterias; Jenkins y Lion, 1993) o exudados microbianos (Zhang y Miller, 1992; Dohse y Lion, 1994).

La materia orgánica soluble (MOS) puede jugar un papel muy importante en el transporte facilitado (Kalbitz *et al.*, 2000; Maxin y Kögel-Knabner, 2005). Compuestos como metales, pesticidas, hidrocarburos aromáticos policíclicos, dioxinas, etc. son capaces de unirse a la MOS y transportarse a través del perfil del suelo (Kukkonen *et al.*, 1990; Cox *et al.*, 2001; de Jonge *et al.*, 2008).

El tamaño máximo de los coloides que pueden estar suspendidos en la disolución viene dado por la tendencia de los mismos a sedimentar y, en general, está por debajo de unas pocas micras. El tamaño mínimo, al que se separan los coloides de la materia orgánica disuelta, suele oscilar alrededor de 10 nm (Ryan y Elimelech, 1996).

Los coloides pueden mantenerse suspendidos en fluidos electrolíticos debido a su pequeño tamaño y dependiendo de sus características físico-químicas. Debido a su alta superficie específica y al elevado número de grupos funcionales que tienen en su superficie, tienen una alta afinidad para mantener adsorbidas especies químicas. Por estas cualidades, su facilidad para permanecer suspendidos en disolución y su alta afinidad para mantener adsorbidas especies químicas, los coloides son potenciales *transportadores* de contaminantes en flujos de agua en ríos, océanos y suelos (Laegdsmand *et al.*, 1999).

Para que el transporte facilitado a través de coloides se dé, tienen que tener lugar tres diferentes procesos: los contaminantes tienen que ser adsorbidos por los coloides, los coloides tienen que ser móviles y, por último, el complejo coloide-contaminante tiene que ser transportado a través del suelo (Laegdsmand *et al.*, 1999; Mackay y Gschwend, 2001).

Por tanto, algunos contaminantes que por sus características, baja solubilidad en agua y alto coeficiente de reparto suelo/agua, no deberían de tener una alta movilidad, como pueden ser ciertos pesticidas, metales pesados, PAHs, etc., pueden llegar a tener una movilidad mucho más alta de la esperada inicialmente. Por ejemplo, cuando se ha medido la concentración de PAHs en aguas subterráneas de sitios contaminados con creosota, los valores obtenidos eran más altos de lo que cabía esperar teniendo en cuenta la composición de la creosota. Se ha sugerido que este resultado se puede explicar por la presencia de coloides que transportan los contaminantes (Backhus *et al.*, 1993; Kiilerich y Arvin, 1996).

Un gran número de autores han estudiado el transporte facilitado mediante el complejo coloide-contaminante. Vinten *et al.* (1983) estudiaron el transporte de los pesticidas DDT y paraquat unidos a partículas del suelo viendo su dependencia de factores

como la fuerza iónica del suelo, la cantidad de agua infiltrada y la textura del suelo. De Jonge *et al.* (1998) estudiaron el transporte facilitado del pesticida prochloraz observando que alrededor de un 20% del pesticida lixiviado estaba adsorbido a partículas mayores de 0.02 μm . Seta y Karathanasis (1996), en un estudio sobre la movilidad del metolachlor, encontraron que la presencia de coloides aumentaba el transporte del pesticida de un 22 a un 70%, dependiendo del tipo y la movilidad de los coloides.

Hay diferentes trabajos donde se estudia la movilización de los coloides desde el suelo o desde los sedimentos de aguas subterráneas por cambios en el flujo o en las propiedades químicas. Los cambios en las propiedades químicas pueden afectar a las fuerzas que mantienen unidos los coloides al suelo, permitiendo así la movilización de los mismos (Ryan y Gschwend, 1994a; Seaman *et al.*, 1995; Kaplan *et al.*, 1996). Cuando las condiciones químicas son favorables para la liberación de coloides, el coeficiente de difusión desde el sitio donde se mantienen unidos hasta la disolución es el factor limitante (Ryan y Gschwend, 1994a; Jacobsen *et al.*, 1997). La movilización de los coloides también se puede ver aumentada por la disolución de los agentes cimentantes. Ryan y Gschwend (1994b) encontraron que la movilización de coloides de caolinita aumentaba cuando la goetita era disuelta debido a cambios en las condiciones de oxidación/reducción. Un aumento en el flujo también aumenta la movilización de los coloides (Kaplan *et al.*, 1993; Ryan y Gschwend, 1994a; Govindaraju *et al.*, 1995). Kaplan *et al.* (1993) encontraron que la concentración de coloides lixiviados en lisímetros dependían de la velocidad del flujo. Pilgrim *et al.* (1978) comprobaron que durante las tormentas, el flujo de aguas subterráneas movilizaba grandes concentraciones de partículas con medidas comprendidas entre 4 y 8 μm , explicando este comportamiento por los impactos de las gotas de agua sobre la superficie del suelo combinado con los recorridos del agua a través de los macroporos. Laegdsmand *et al.* (1999) proponen que la combinación de macroporos con la infiltración continua de agua con una fuerza iónica baja puede llevar a la desaparición iones de los macroporos y de la matriz que los rodea, con el resultado de la desestabilización de los agregados de las paredes de los macroporos, incrementando así la movilización y el transporte de los coloides.

I.2.2.1.2. Características físico-químicas del contaminante.

Las principales características del contaminante que van a afectar a la lixiviación del mismo son: ionizabilidad, solubilidad en agua, presión de vapor e hidrofobicidad.

Los compuestos catiónicos son, en general, poco móviles debido a los fuertes enlaces iónicos que forman con el complejo de cambio catiónico de los coloides. Los compuestos muy solubles en agua suelen tener una alta movilidad al ser débilmente adsorbidos. La movilidad de compuestos con características ácido/base depende de su pK_a y del pH del suelo, ya que va a determinar la relación entre forma ionizada y la forma neutra del compuesto (Dubus *et al.*, 2001). Las sustancias básicas, en general, tienen una baja movilidad; sin embargo, las sustancias con carácter ácido suelen tener una alta movilidad a pH habituales en suelos. En el caso concreto de los ácidos aromáticos de bajo peso molecular, éstos suelen ser bastante móviles a los pH habituales de los suelos. Dependiendo del grado de disociación (pK_a) y el número de grupos carboxílicos tendrán una carga negativa mayor o menor (Jones, 1998) y, por tanto, una mayor o menor capacidad para lixiviar.

I.2.2.1.3. Características del suelo.

Características del suelo como el contenido en materia orgánica, el contenido en óxidos metálicos, el pH o el contenido en arcilla van a ser decisivas en la adsorción de los compuestos orgánicos al suelo y, por tanto, van a determinar su capacidad para lixiviar. La dinámica del proceso de adsorción al suelo es complicada y no puede ser generalizada usando sólo una de estas características (Cecchi *et al.*, 2004), sino que la adsorción al suelo de una sustancia es el resultado de la influencia de todas estas características del suelo sobre el compuesto.

Otra de las propiedades más importantes del suelo que influye en la lixiviación es la presencia de *macroporos*. La importancia de los macroporos como un mecanismo de flujo preferencial permitiendo la infiltración de agua y el transporte de solutos ha tenido un reconocimiento general durante las últimas décadas (Christiansen *et al.*, 2004). Mediante este mecanismo el soluto percola a través del suelo de una manera rápida y sin apenas interactuar con el suelo, permitiendo así que puedan llegar a aguas subterráneas solutos poco solubles. A este tipo de transporte se le denomina *hidrodinámico*, mientras que el que tiene lugar a través de la matriz del suelo se da además por *difusión*. La presencia de poros de gran tamaño puede deberse a distintos factores como pueden ser: conductos de animales, canales de raíces, roturas y fisuras que se originan por el efecto del agua, por expansión y contracción del suelo, congelamiento y deshielo y conductos formados por la acción erosiva del agua.

Estudios realizados por Toran y Palumbo (1991) en columnas empaquetadas con arena mostraron que el retraso en la lixiviación de coloides disminuía al incrustar

macroporos artificiales en la dirección del flujo. Además, vieron que macroporos con un diámetro alto daban como resultado varios picos de lixiviación.

I.2.2.1.4. Intensidad y frecuencia del agua de lluvia o riego.

La intensidad y frecuencia del agua aplicada va a tener una gran influencia en la lixiviación. El aporte de agua puede ser de manera natural, mediante precipitaciones, o de manera artificial, mediante el riego. En el caso del aporte artificial, el riesgo de lixiviación y contaminación de aguas subterráneas es menor, al estar controlada la aplicación del agua. Sin embargo, en el caso del aporte natural, el riesgo de contaminación de aguas subterráneas es alto, ya que la lluvia se concentra en determinados periodos y puede ser de gran intensidad.

I.2.2.2. Estudio de la lixiviación.

Los estudios de movilidad son muy importantes porque nos van a permitir predecir el comportamiento de la molécula en el suelo y, por tanto, determinar su efecto, persistencia y riesgo de contaminación.

Los estudios que se pueden realizar sobre lixiviación de contaminantes pueden ser de dos tipos: de laboratorio o de campo.

Los **estudios de laboratorio** presentan la ventaja de poder evaluar la influencia de un determinado factor manteniendo constante el resto. También nos permiten obtener resultados comparativos y reproducibles. Sin embargo, tienen el inconveniente de no representar las condiciones normales de campo; no se tienen en cuenta efectos como los cambios de temperatura y de humedad, etc. Éstos son factores que pueden afectar a la movilidad de la molécula.

Los **estudios de campo** tienen la principal ventaja de acercarse a las condiciones reales del suelo, ya que éste mantiene su estructura original y se dan las condiciones normales de campo. Este tipo de estudio presenta el inconveniente de tener una mayor complejidad; hay que tener en cuenta la heterogeneidad del suelo, por lo que hace falta un gran número de replicados.

A continuación se exponen algunos de los métodos de estudio más usados.

I.2.2.2.1. Lisímetros.

Ésta es una de las técnicas que se engloban dentro de los estudios de campo y, por tanto, respeta las condiciones reales del suelo; mantiene la estructura intacta del suelo, manteniendo su porosidad original, fisuras y grietas que van a determinar el paso de agua y de aire. También se van a dar las condiciones reales de campo y sus variaciones.

Los lisímetros consisten en un tubo de medidas variables pero que oscilan entre 10 y 50 cm de diámetro y de 50 a 150 cm de longitud. En general, están hechos de acero inoxidable o PVC. Uno de los extremos del lisímetro está afilado para facilitar su penetración en el suelo; en este mismo extremo se coloca un tamiz para impedir que lleguen partículas del suelo al recipiente colector, que suele ser de vidrio. Los lixiviados se recogen por succión mediante un tubo de plástico o teflón (Figura I.11).

Los lisímetros, al ser sistemas cerrados, permiten el control exacto del agua que percola a través del suelo (Bregström, 1990a y b).

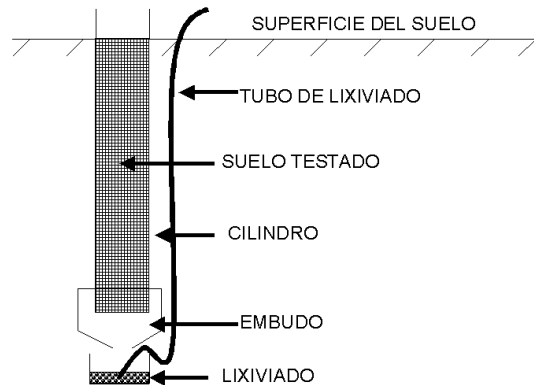


Figura I.11. Esquema de un lisímetro.

I.2.2.2.2. Cromatografía en capa gruesa.

Este método, que pertenece a los estudios de laboratorio, fue desarrollado por Gerber *et al.* en 1970. Consiste en una bandeja ligeramente inclinada, unos 15 grados, que está llena de suelo tamizado a 2 mm. En el extremo elevado de la bandeja hay una mecha de algodón que por un lado está sumergido en un recipiente con agua. El otro lado está en contacto con el suelo proporcionándole un flujo constante de agua. La molécula objeto de estudio se aplica al extremo elevado de la bandeja y, una vez se ha saturado el suelo, se

realiza un bioensayo con una especie sensible a la molécula aplicada. Esto nos determina el avance de la molécula a través del suelo.

Mediante este método podemos conocer el máximo en la distribución de la molécula, obteniendo, a su vez, el índice de lavado, que se define como la distancia entre el máximo y el extremo elevado de la bandeja. Esta técnica permite la comparación de una molécula en varios suelos, de varias moléculas en un solo suelo, etc.

I.2.2.2.3. Cromatografía de capa fina.

Esta técnica se engloba en los estudios de laboratorio y fue descrita por Helling y Turner en 1968. Consiste en un soporte de vidrio sobre el que se aplica una fina capa de suelo, la molécula se marca radiactivamente para su posterior detección y se aplica en un extremo. A continuación, se hace pasar un volumen de agua hacia el otro extremo.

La cromatografía de capa fina permite el estudio de la movilidad relativa de las moléculas, el estudio de varias moléculas bajo las mismas condiciones y la influencia de las propiedades del suelo sobre éstas. Es un método rápido y reproducible y, además, de fácil preparación. La experiencia tiene lugar bajo condiciones de flujo insaturado, es decir, el movimiento del agua está gobernado por las mismas leyes que en el suelo.

I.2.2.2.4. Columnas de suelo.

Ésta es la técnica más utilizada para estudiar la movilidad de moléculas en el laboratorio. La columna de suelo consiste en un cilindro de diferentes materiales como vidrio, PVC, aluminio, etc. Este cilindro se rellena con el suelo objeto de estudio y se aplica el compuesto por el extremo superior. La columna se lava periódicamente con agua, recogiendo los lixiviados y analizándolos posteriormente para determinar la cantidad de compuesto que percola. Podemos completar el estudio analizando los restos de la molécula que quedan en el interior de la columna y determinando así su distribución.

Las columnas tienen una gran versatilidad, al poder emplearse diferentes formas de aplicación y cantidades del compuesto, controlar el flujo de agua, etc.; además, se pueden emplear diferentes métodos de análisis. También pueden ser utilizadas en experiencias con moléculas muy persistentes y se pueden adaptar para el uso de moléculas volátiles.

Existen, principalmente, 2 tipos de columnas:

- **Columnas empaquetadas manualmente:** se suelen hacer con la fracción de suelo menor de 2 mm (Figura I.12). Con ellas se puede estudiar la influencia de las características físico-químicas del suelo sobre la molécula, o bien, comparar la movilidad de diferentes moléculas bajo las mismas condiciones. La principal ventaja de este tipo de columnas es la gran reproducibilidad de los resultados.
- **Columnas inalteradas:** son columnas en las que se respeta la estructura original del suelo, siendo ésta su principal ventaja. Como inconveniente cabe destacar que necesita un mayor número de replicados debido a la heterogeneidad de la estructura del suelo.

Con las columnas de suelo tenemos muchas posibilidades de estudio: movilidad relativa de una molécula en distintos suelos, movilidad de distintas moléculas en un mismo suelo, se puede estudiar la influencia del laboreo y otras prácticas agrícolas, influencia del flujo saturado-insaturado, estudios de la influencia de la adición de residuos sobre la movilidad, etc.

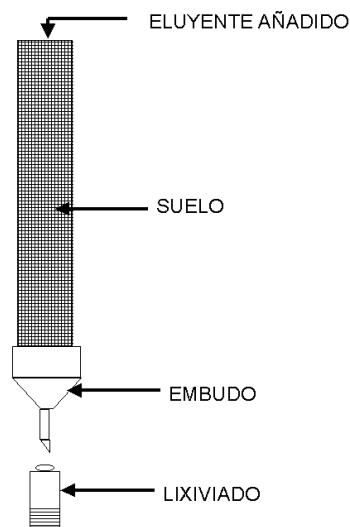


Figura I.12. Esquema de una columna empaquetada a mano.

I.2.3. Otros procesos de transporte: volatilización, escorrentía, difusión y absorción por plantas y organismos.

I.2.3.1. Volatilización.

La *volatilización* es el paso del compuesto orgánico al estado gaseoso. Este fenómeno se da en mayor medida en el momento de su llegada al suelo.

Estudios de campo, de laboratorio y realizados con modelos sugieren que el movimiento de los compuestos volátiles a través del suelo está influenciado, en gran medida, por los procesos de difusión (Jury *et al.*, 1990; Jellali *et al.*, 2001; Choi *et al.*, 2002). La difusión de los compuestos volátiles depende de las características físicas y químicas del compuesto como su presión de vapor, estructura, número y tipos de grupos funcionales; de características del suelo como la porosidad, la humedad, el contenido en materia orgánica; de la degradación biológica y química; de la adsorción al suelo; y de los flujos de agua a través del suelo (Jury *et al.*, 1990; Batterman *et al.*, 1996; Stauffer *et al.*, 2005).

El paso del compuesto a la atmósfera está influenciado directamente por factores meteorológicos entre los que podemos destacar las precipitaciones, la temperatura, presión atmosférica, etc. Las *precipitaciones*, al infiltrarse el agua en el suelo, pueden hacer que las moléculas de agua desplacen a los compuestos orgánicos que se encuentran adsorbidos al suelo pasando éstos al estado gaseoso y produciéndose así un incremento temporal de la volatilización del contaminante (Valsaraj *et al.*, 1999; Poulsen *et al.*, 2000). Además, las precipitaciones suelen venir acompañadas de una bajada de presión que ayuda a este incremento temporal de la volatilización. La *temperatura* es otro de los factores que influyen directamente en la volatilización, ya que hay una relación directa entre la concentración de los compuestos volátiles en el aire y la temperatura ambiental (Honrath *et al.*, 1997; Hoff *et al.*, 1998; Cortes *et al.*, 1998; Lee y Jones, 1999). Al aumentar la temperatura, la concentración de los compuestos volátiles aumenta debido a la volatilización desde las superficies de suelos, partículas atmosféricas, agua y vegetación (Sofuoglu *et al.*, 2001). La *presión atmosférica* es otro de los factores que controla el paso de los compuestos orgánicos a la atmósfera. Se han descrito aumentos en el flujo debido a cambios en este factor (Massmann y Farrier, 1992; Auer *et al.*, 1996; Elberling *et al.*, 1998; Takle *et al.*, 2004).

En el caso de los PAHs existe una correlación entre el grado de volatilización y su peso molecular, de tal manera que al disminuir su peso molecular aumentar su tendencia a

pasar al estado gaseoso (Wang *et al.*, 2005). En la Tabla I.5 se presentan los pesos moleculares y las presiones de vapor de los 16 PAHs clasificados por la USEPA como contaminantes prioritarios, observándose como existe una relación inversa entre ambos parámetros.

Tabla I.5. Presión de vapor y peso molecular de los 16 PAHs clasificados por la USEPA como contaminantes prioritarios.

	Presión de Vapor (Pa)	Peso Molecular (g/mol)
Naftaleno	10.4	128.2
Acenaftileno	0.9	152.2
Acenafteno	0.3	154.2
Fluoreno	0.09	166.2
Fenantreno	0.02	178.2
Antraceno	$0.1 \cdot 10^{-2}$	178.2
Pireno	$0.6 \cdot 10^{-3}$	178.2
Fluoranteno	$1.23 \cdot 10^{-3}$	202.3
Benzo[a]antraceno	$2.80 \cdot 10^{-5}$	228.3
Criseno	$5.70 \cdot 10^{-7}$	228.3
Benzo[b]fluoranteno	$3.00 \cdot 10^{-9}$	252.3
Benzo[k]fluoranteno	$5.20 \cdot 10^{-8}$	252.3
Benzo[a]pireno	$7.00 \cdot 10^{-7}$	252.3
Indeno[1,2,3-cd]pireno	$1.30 \cdot 10^{-8}$	276.3
Benzo[g,h,i]perileno	$1.30 \cdot 10^{-8}$	276.3
Dibenzo[a,h]antraceno	$3.70 \cdot 10^{-10}$	278.4

Aunque la volatilización se da en mayor medida en el momento de la llegada al suelo de los contaminantes, también se ha descrito el paso desde aguas subterráneas a la atmósfera para compuestos con una alta presión de vapor como son los PAHs y los hetero-PAHs (Lahvis *et al.*, 1999; Tillman *et al.*, 2003; Choi y Smith, 2005). Estas moléculas pueden pasar, debido a su alta presión de vapor, desde las aguas subterráneas al suelo, donde pueden ser degradadas al haber condiciones aeróbicas relativamente mayores, y del suelo, por un transporte ascendente, ser liberadas a la atmósfera (Marr *et al.*, 2006). La volatilización es una fuente importante de exposición humana a estos compuestos. Se han descritos otras fuentes de exposición, relacionada con la volatilización, como es la *intrusión de vapor*, donde el transporte de los gases desde el suelo al interior de los edificios se

realiza por advección y/o por difusión a través de grietas en la propia estructura del edificio o por alcantarillas o sumideros (Olson y Corsi, 2002).

Además de la forma gaseosa, el paso a la atmósfera se puede realizar asociado a partículas. Este es un importante mecanismo de dispersión de contaminantes pudiendo transportarlos a grandes distancias. La deposición en los suelos puede ser de 2 maneras, bien por un impacto directo de las partículas y moléculas gaseosas sobre las superficies del suelo (deposición seca), o bien por precipitación (deposición húmeda) (Motelay-Massei *et al.*, 2006). El papel de las deposiciones atmosféricas se ha estimado en el mismo orden de magnitud que las descargas de aguas residuales (Webber, 1983). Se ha estimado que del 10 al 80% de los PAHs que existen en los océanos del mundo tiene un origen atmosférico (Manoli y Samara, 1999; Moore y Ramamoorthy, 1984).

I.2.3.2. Escorrentía.

La *escorrentía* es el conjunto de aguas que se desplaza por la superficie terrestre gracias a la fuerza de la gravedad. Se produce, según la teoría de Horton, cuando la precipitación o el riego superan la tasa de infiltración de agua del suelo. Los factores más importantes que determinan las pérdidas de compuesto por escorrentía son: las condiciones climáticas, las características del suelo y las características del compuesto orgánico. Según Wauchope (1978), las pérdidas de compuesto en aguas de escorrentía tienen lugar en disolución para compuestos con solubilidad en agua >2 mg/l y con el compuesto adsorbido a los coloides del suelo para compuestos con solubilidades en agua <2 mg/l. Este proceso de transferencia contribuye a la contaminación de aguas superficiales y sedimentos.

Es de esperar que los ácidos aromáticos de bajo peso molecular, por su solubilidad relativamente alta en agua, sean arrastrados disueltos en las corrientes de agua. Por el contrario, los hetero-PAHs tienen mayores posibilidades de transportarse unidos a coloides del suelo. Para los compuestos que se transportan unidos a coloides, como los PAHs, se ha visto que la fracción fina del suelo (<45 μm) tiene una mayor importancia para este fenómeno que la fracción gruesa. La fracción gruesa tiene una mayor importancia cuando el flujo de la escorrentía crece rápidamente. La fluctuación en el contenido de PAHs durante los episodios de escorrentía es significativa para la fracción gruesa, sin embargo, para la fracción fina, esta fluctuación es menor (Aryal *et al.*, 2006).

La escorrentía de los PAHs es particularmente importante debido a su alta persistencia en el medioambiente y su toxicidad sobre los organismos acuáticos (Hoffman *et al.*, 1984; Borchardt y Sperling, 1997; Walker *et al.*, 1999). Los PAHs pueden llegar a las superficies terrestres por deposiciones desde la atmósfera y pueden ser transportados desde aquí por el fenómeno de escorrentía. Esta resuspensión es muy variable y puede depender de factores como el tipo de superficie y de parámetros meteorológicos como la concentración y la intensidad de las lluvias, y los periodos secos entre los episodios de lluvia (Fergusson y Ryan, 1984; Bris *et al.*, 1999; Krein y Schorer, 2000).

I.2.3.3. Difusión.

La *difusión* es el fenómeno por el cual un contaminante se desplaza de un punto a otro dentro de una misma fase en el suelo o agua. Según la ley de Fick, la densidad de corriente de partícula es proporcional al gradiente de concentración

$$J = -D \frac{\partial n}{\partial x}$$

donde J es el flujo de masas, ∂n es el gradiente de concentraciones y ∂x es la distancia de difusión. La constante de proporcionalidad D se denomina coeficiente de difusión y es característico tanto del soluto como del medio en el que se disuelve.

Los factores que afectan a la difusión son la solubilidad y presión de vapor del contaminante, así como la temperatura, el contenido de humedad y la porosidad del suelo.

I.2.3.4. Absorción por plantas y organismos.

La *absorción por plantas y organismos* es otro de los procesos de transporte que se da en el suelo. Muchas sustancias son absorbidas por plantas, insectos, nematodos, etc., pudiendo degradarse o quedarse asociados a residuos de plantas y organismos. Ésta puede ser una vía natural de detoxificación.

Algunas bacterias, hongos y plantas superiores, en las condiciones adecuadas, son capaces de sintetizar PAHs que contienen en su estructura sustituyentes con oxígeno, nitrógeno o azufre, tal es el caso de los pigmentos quinónicos (Thompson, 1968), como el que vemos en la Figura I.13. Aunque parece ser que las concentraciones de PAHs

encontradas en bacterias y plantas experimentales pueden ser atribuidas a la acumulación por los mismos de PAHs procedentes del medio ambiente que les rodea (Hase y Hites, 1976; Payer *et al.*, 1975; Grimer y Duval, 1970). No existe una clara evidencia de la biosíntesis directa de estos compuestos.

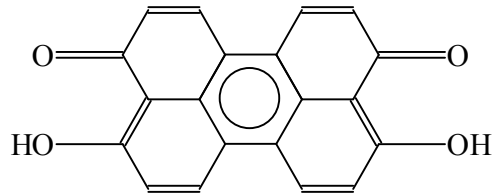


Figura I.13. Ejemplo del producto natural con estructura de PAH (4,9-dihidroxiperileno-3,10-quinona) del hongo *Daldinia concentrica*.

I.2.4. Degradación.

Podemos definir la degradación de un compuesto en el suelo como la transformación que se produce en su estructura al interaccionar con los componentes bióticos o abióticos presentes en el suelo, capaces de modificar profundamente sus características físico-químicas y su acción biológica.

Este fenómeno da lugar a la aparición de nuevos compuestos que no necesariamente han de ser menos tóxicos que las sustancias originales. Cuando el producto de degradación es menos tóxico que la sustancia original se trata de una *inactivación o destoxificación*. Por el contrario, si el producto resulta más tóxico que la sustancia original, se ha producido una *activación*.

Los productos de degradación suelen ser más polares y solubles en agua que los compuestos de partida y, por ello, suelen tener una mayor capacidad para lixiviar y llegar a contaminar aguas subterráneas. La degradación puede ser parcial o total, llegando en casos extremos a la obtención de compuestos inorgánicos (mineralización) como agua, CO₂, haluros, amonio, fosfato, etc.

Los procesos de degradación los podemos dividir en tres tipos: fotodegradación, degradación química y degradación biológica.

I.2.4.1. Fotodegradación.

Es la degradación que se produce por efecto del espectro de la luz solar sobre un compuesto. Las fuentes de luz y su intensidad regulan su grado de descomposición.

Hay dos tipos de fotodegradación, la *directa*, que se refiere a la iniciación del proceso por la absorción directa de luz por el compuesto; y la *indirecta*, en la cual otra especie absorbe la luz e inicia las reacciones de degradación del compuesto. Tanto la fotodegradación directa como la indirecta representan importantes rutas de degradación para ciertos contaminantes en el medio ambiente (Lányi y Dinya, 2003).

Los PAHs constituyen un importante grupo de contaminantes que pueden encontrarse en el aire, suelo, agua, vegetación, etc. (Tremolada *et al.*, 1996; Holoubek *et al.*, 2000; Buehler *et al.*, 2001; Gosh *et al.*, 2003). La fotodegradación es uno de los mayores procesos de transformación abióticos que se puede dar en el medio ambiente para los PAHs (Zeep y Schlotzhauer, 1979). Además, la fotólisis suele ser un proceso muy rápido. Por ejemplo, en fase acuosa, la vida media de los PAHs debida a la fotólisis es de minutos u horas (Zeep y Schlotzhauer, 1979; Mill *et al.*, 1981; Sabaté *et al.*, 2001; Miller y Olejnik, 2001). El comportamiento fotoquímico de los PAHs no sólo depende de la estructura molecular del compuesto, también juegan un importante papel las propiedades físicas y químicas de la superficie sobre la que son adsorbidos (Korfmacher *et al.*, 1980).

En el suelo, este tipo de degradación es importante a nivel superficial, ya que los rayos ultravioletas no tienen capacidad para penetrar a grandes profundidades.

I.2.4.2. Degradación química.

La degradación química puede ocurrir por diferentes procesos entre los que destacan:

- Oxidación y reducción.
- Hidroxilación.
- Desalquilación.
- Rotura de anillos.
- Hidrólisis e hidratación.

Pueden ocurrir tanto en disolución como catalizadas por la superficie de los coloides del suelo (Armstrong y Konrad, 1974).

Los factores más importantes de los que depende la degradación química son:

- pH del suelo.
- El potencial redox del suelo.
- La temperatura.
- La composición de la disolución.
- La composición de la fracción coloidal del suelo.

I.2.4.3. Degradación biológica.

La acción de los microorganismos del suelo sobre los compuestos orgánicos constituye probablemente el mecanismo de descomposición más importante. Los microorganismos del suelo, bacterias, algas y hongos, obtienen alimento y energía para su crecimiento por descomposición de estos compuestos orgánicos, especialmente cuando carecen de otras fuentes.

Los microorganismos pueden transformar los compuestos orgánicos en otros menos tóxicos y/o retenerlos en la matriz orgánica y, por tanto, reducir su biodisponibilidad (Sánchez *et al.*, 2004).

En general, se considera que los microorganismos sólo pueden degradar los sustratos orgánicos cuando están disueltos en agua (Subba-Rao y Alexander, 1982; Weissenfels *et al.*, 1992; Johnsen *et al.*, 2005), por lo tanto, muchos estudios proponen que la acumulación de PAHs en sedimentos o suelos reduce su biodisponibilidad y, por tanto, retrasan su biodegradación (Harms y Bosma, 1997, Bosman *et al.*, 1997; Wilcke, 2000; Yuan y Chang, 2001; Johnsen *et al.*, 2005). Sin embargo, otros estudios muestran que la existencia de sedimentos puede conllevar un aumento de la biodegradación, ya que los contaminantes adsorbidos pueden ser degradados por bacterias en la fase sólida (Guerin y Boyd, 1992; Hwang *et al.*, 2003). Por ejemplo, Poeton *et al.* (1999) nos presenta estudios donde la presencia de sedimentos aumenta la biodegradación de fenantreno y fluoranteno por parte de algunas bacterias marinas. Varios estudios sugieren que el aumento de la biodegradación en presencia de sedimentos se puede explicar por varios mecanismos: 1) el aumento del número de bacterias al aumentar la cantidad de sedimentos, 2) aunque al aumentar la cantidad de sedimentos disminuye la adsorción de PAHs por unidad de peso,

la concentración total de PAHs adsorbidos aumenta con el contenido en sedimentos y 3) la desorción de PAHs de la fase sólida hace que haya una alta concentración de PAHs en la interfase agua-sedimento. Las bacterias son también atraídas hacia la interfase, aumentando así el número de contactos entre las bacterias y los PAHs y, por tanto, su degradación (Xia, *et al.*, 2006). Hwang y Cutright (2003) investigaron la desorción y la biodegradación de pireno y su relación con las características del suelo. Sus resultados indicaron que, aunque la biodisponibilidad de pireno en agua era limitada debido a la fuerte asociación con las arcillas expansibles, el movimiento de las bacterias y la adhesión a éstas arcillas son los responsables, en gran medida, de la biodegradación en la fase sólida.

Se han aislado numerosos microorganismos capaces de utilizar como fuente de carbono dibenzofurano, como ejemplo podemos citar: *Comamonas* sp. (Wang *et al.*, 2004), *Pseudomonas veronii* PH-03 (Hong, *et al.*, 2004), *Janibacter* sp. YY-1 (Yamazoe *et al.*, 2004), *Janibacter terrea* XJ-1 (Shiwei *et al.*, 2006), *Paecilomyces lilacinus* (Gesell, M., *et al.*, 2004).

El ácido salicílico es un metabolito de las rutas de degradación de muchos PAHs por parte de microorganismos. *Rhodococcus opacus* R7 ha sido aislado en suelos contaminados con PAHs debido a su capacidad para crecer utilizando naftaleno como sustrato, teniendo entre sus metabolitos resultantes al ácido salicílico (Di Gennaro *et al.*, 2001) (Figura I.14). También puede aparecer como metabolito en las rutas de degradación de hetero-PAHs, por ejemplo, en la degradación de dibenzofurano aparece entre sus metabolitos (Stope *et al.*, 2002; Hong *et al.*, 2004; Yamazoe *et al.*, 2004) (Figura I.15).

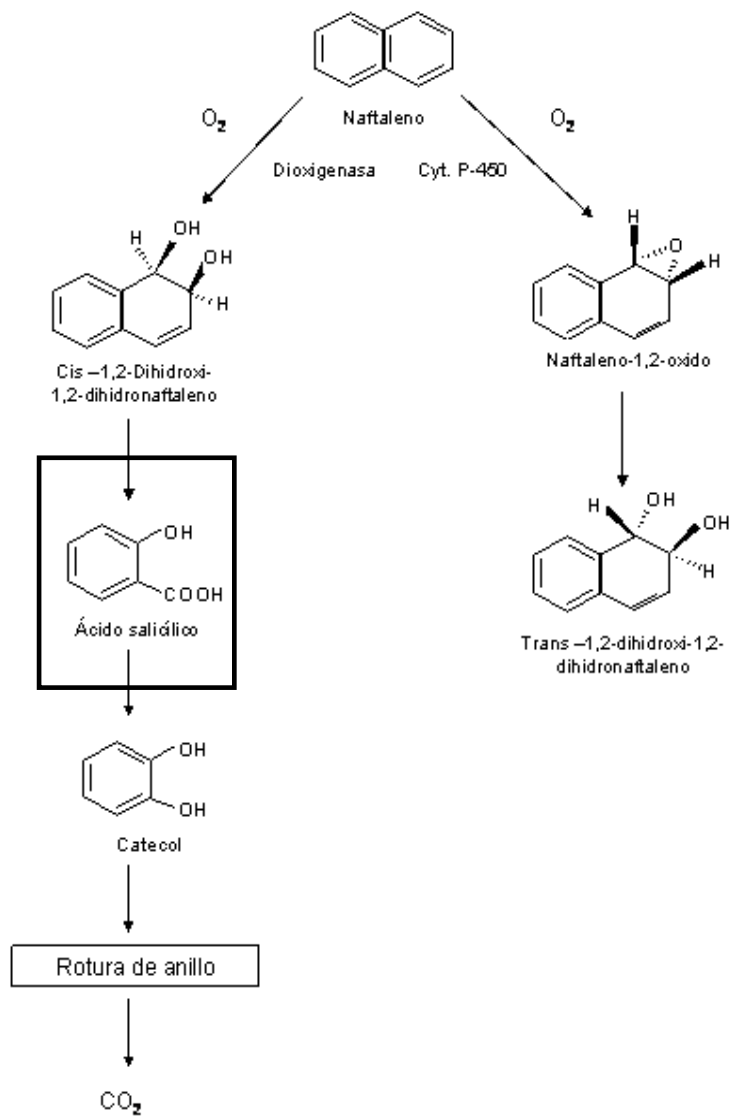


Figura I.14. Ruta de la oxidación del naftaleno por *Mycobacterium sp.*

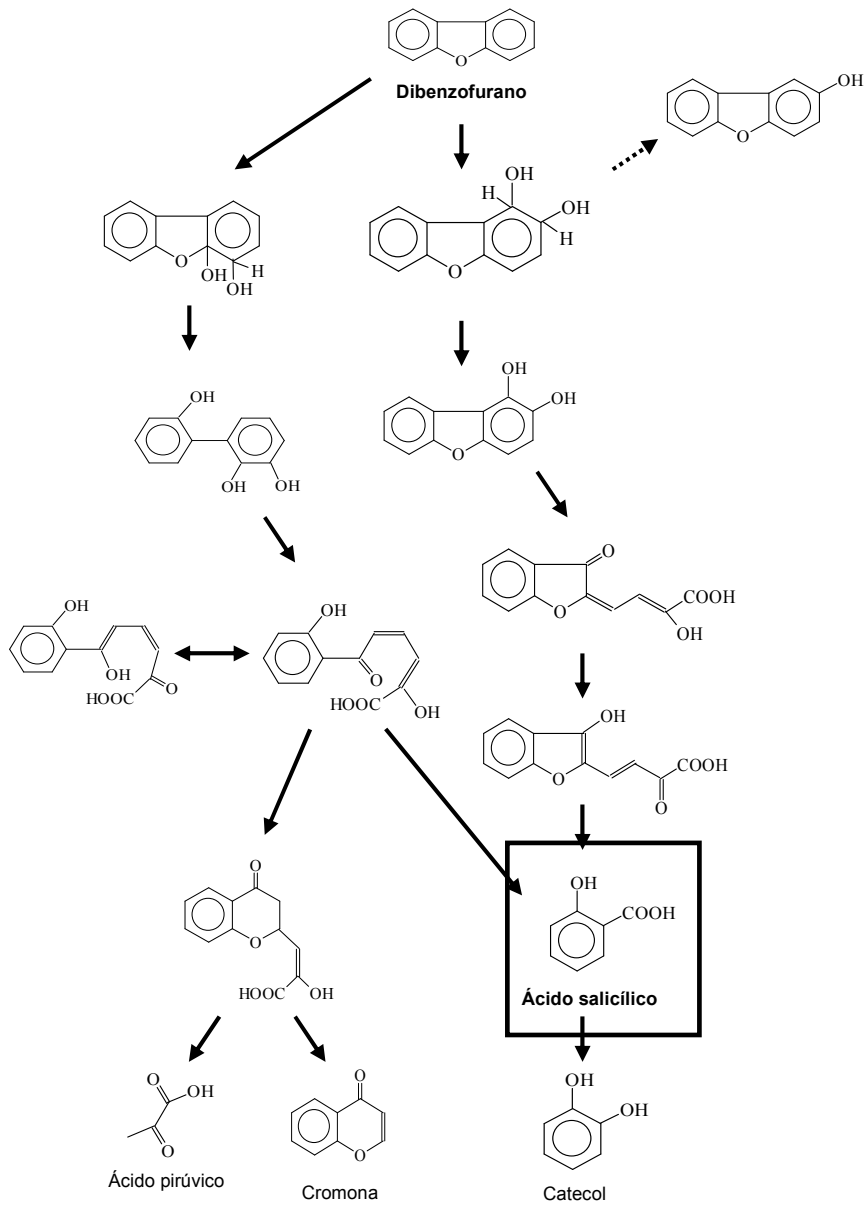


Figura I.15. Ruta de degradación de dibenzofurano por *Janibacter* sp. YY-1.

El ácido ftálico también está en la ruta de degradación de muchos compuestos por acción de microorganismos. Por ejemplo, *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1 en su degradación de fenantreno y pireno da entre sus metabolitos al ácido ftálico (Kim *et al.*, 2004). A modo de ejemplo exponemos las rutas de biodegradación propuestas para los PAHs fenantreno y antraceno entre cuyos productos se encuentra al ácido ftálico (Figura I.16 y I.17)

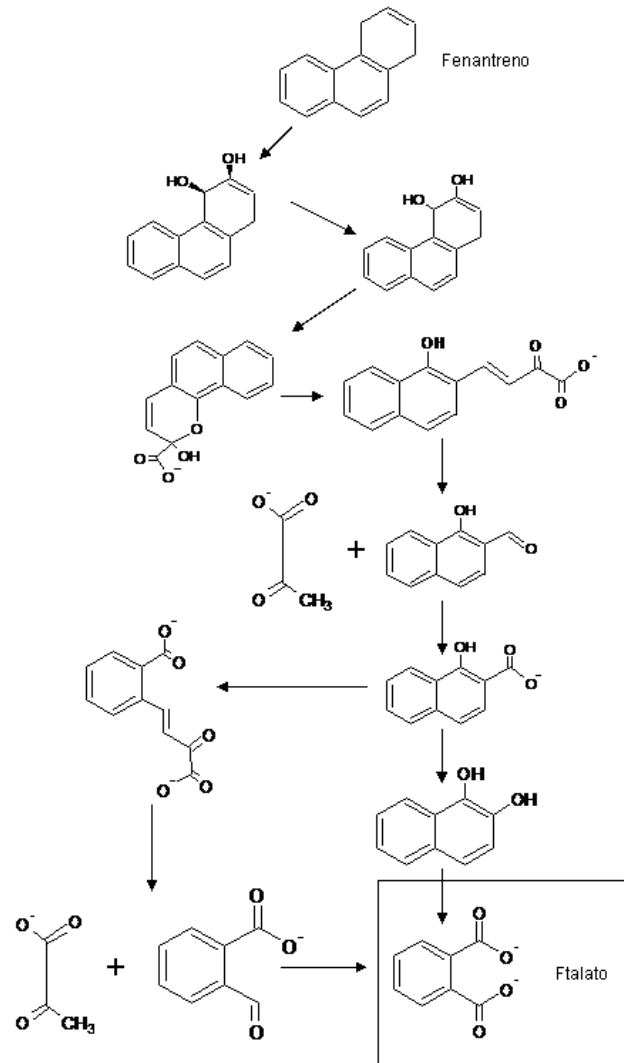


Figura I. 16. Ruta de biodegradación propuesta para fenantreno.

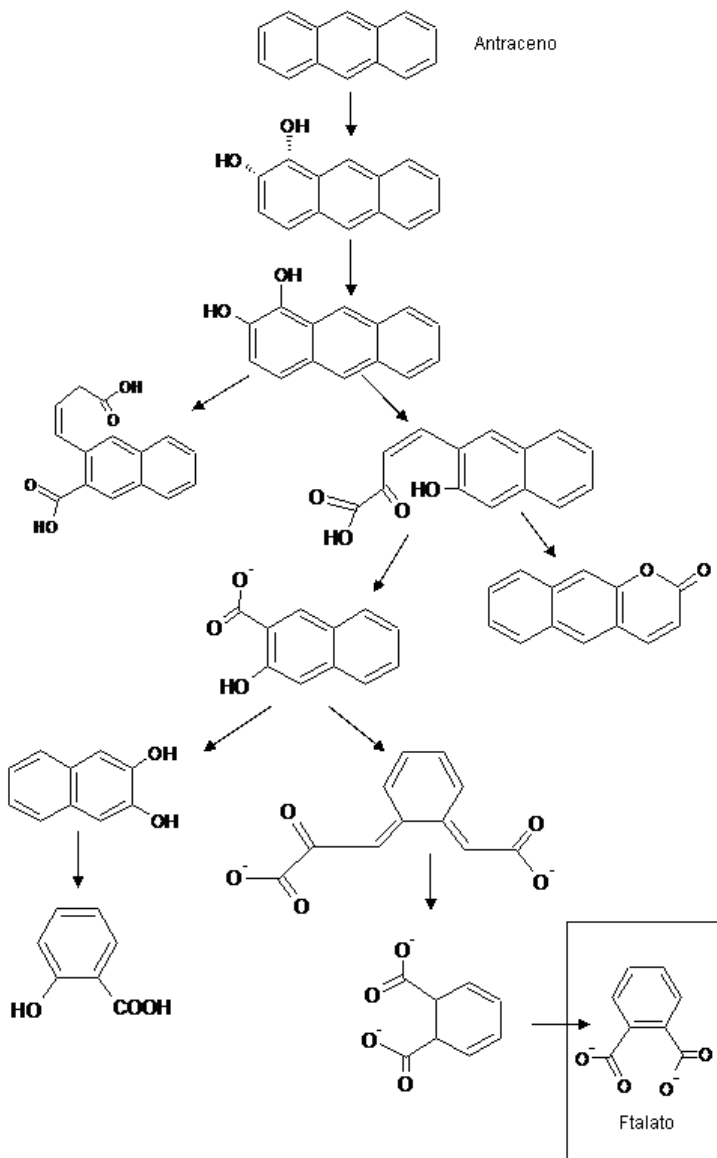


Figura I. 17. Ruta de biodegradación propuesta para antraceno.

Cinética de la biodegradación:

La curva de biodegradación de un compuesto proporciona información acerca de su comportamiento en el suelo. Nos va a aportar conocimientos sobre su disponibilidad en las estaciones de crecimiento de los microorganismos que lo degradan y la bioacumulación en la macrobiota.

Para describir el comportamiento de los compuestos que son cometabolizados, es decir, no usados como sustrato de crecimiento, la cinética de primer orden es la más adecuada (Figura I.18). La cinética de primer orden se describe gráficamente como una curva exponencial. La expresión cinética más exacta es, de hecho, la cinética de pseudo-primer orden, donde la tasa de degradación depende tanto de la concentración del compuesto como del número de microorganismos degradadores del mismo. Sin embargo, debido a la dificultad para enumerar estos microorganismos, se usan constantes de primer orden o la vida media.

Para los compuestos usados como sustrato de crecimiento microbiano es frecuente observar curvas sigmoidales de biodegradación (Figura I.18). Los datos de la curva sigmoideal son más difíciles de interpretar que los de la curva exponencial haciendo falta, al menos, cuatro constantes cinéticas para describirlas y siendo, por ello, más difícil predecir el comportamiento del compuesto en el medio ambiente. La curva sigmoideal del compuesto metabolizado se puede identificar con una cinética de crecimiento microbiano.

Las curvas de biodegradación tienden a ser específicas para cada compuesto en cada suelo, ya que los parámetros del suelo tales como temperatura, humedad o pH influyen en la biodisponibilidad del compuesto. La degradación es directamente proporcional a la densidad de población de los microorganismos que degradan el compuesto. En general existe también una correlación positiva entre la degradación y la temperatura del suelo, la humedad y el pH, aunque existen algunas excepciones como, por ejemplo, las reacciones oxidativas que se producen en menor medida en el agua del suelo debido a la baja difusión de oxígeno. Las transformaciones catalizadas por hongos son más frecuentes a pH bajos (Kearney *et al.*, 1997).

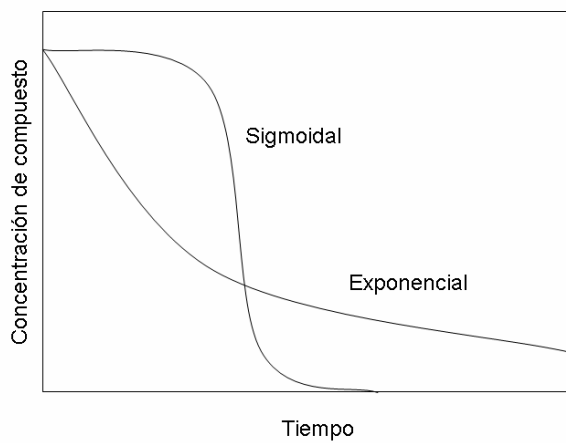
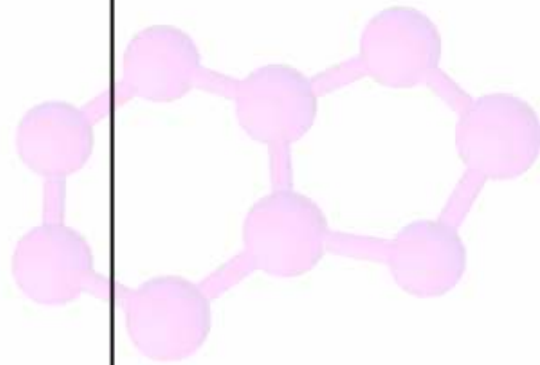
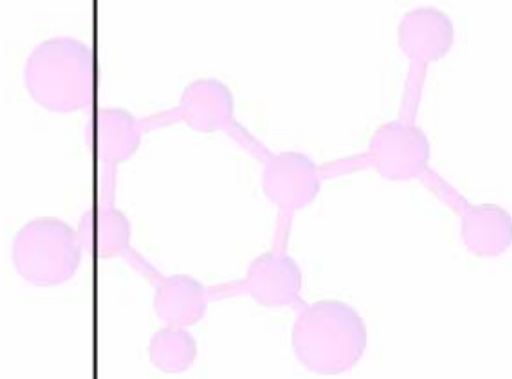


Figura I.18. Diferentes curvas de biodegradación.



II. Objetivos.

La contaminación ha dejado de ser considerado como un problema local para convertirse en un problema global. Las emisiones de una industria no solo afectan a zonas aledañas. Por medio del viento, por ejemplo, se pueden llegar a contaminar puntos muy lejanos; un río contaminado puede afectar a tantos países como su cauce atraviese, etc. Por ello, la contaminación exige una solución global y conjunta de todos los países. En este sentido se enmarcan iniciativas como el protocolo de Kioto donde se pone de manifiesto la concienciación mundial frente a este problema. Una herramienta fundamental para enfrentarse a la contaminación y sus efectos es el conocimiento de los patrones de comportamiento de los contaminantes. Esta tesis doctoral trata de aportar conocimientos sobre un grupo de compuestos poco estudiados.

El objetivo de este trabajo ha sido estudiar el comportamiento de tres hetero-PAHs: benzofurano, dibenzofurano y acridina y de tres ácidos aromáticos de bajo peso molecular: ácido salicílico, el ácido o-ftálico y picloram, en suelos con diferentes características, y relacionar dicho comportamiento con la estructura química de las moléculas y las propiedades de los suelos utilizados.

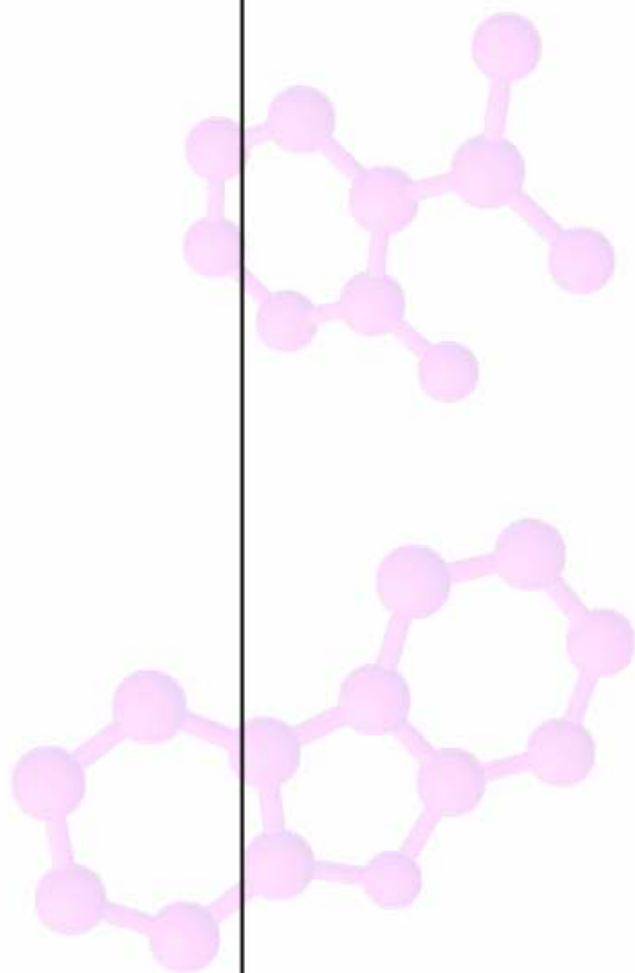
Se seleccionaron los tres hetero-PAHs mencionados anteriormente por estar presentes habitualmente en suelos contaminados por hidrocarburos. Éstos pueden llegar al suelo mediante emisiones industriales, de tráfico automovilístico, se pueden encontrar en suelos cercanos a estaciones de servicio, etc. (Motelay-Massei *et al.*, 2006). También son una fracción importante dentro de la creosota donde los hetero-PAHs pueden llegar a suponer el 5% de los hidrocarburos presentes (Mueller *et al.*, 1989).

Los ácidos aromáticos, ácido salicílico y ácido o-ftálico, se eligieron por ser importantes metabolitos de compuestos hidrofóbicos de amplia presencia en el medio ambiente como pesticidas, hidrocarburos aromáticos policíclicos, ftalatos, etc. El picloram se escogió, a título comparativo, como ejemplo de ácido aromático de bajo peso molecular con una alta persistencia y gran movilidad.

Como se ha comentado al comienzo de esta memoria, el estudio del comportamiento de este tipo de compuestos en suelos ha recibido mucha menos atención que el estudio de los compuestos de partida, en el caso de los ácidos aromáticos, o que sus PAHs análogos sin sustituir, en el caso de los hetero-PAHs, a pesar de que en muchas ocasiones los compuestos estudiados en esta tesis doctoral pueden representar un riesgo de contaminación incluso mayor que el representado por los contaminantes mayoritarios.

Para alcanzar el objetivo propuesto en la presente tesis doctoral se diseñaron experimentos de adsorción a suelos, fracciones arcilla y adsorbentes modelos, estudios de persistencia en suelos, estudios de lixiviación y la influencia sobre la misma de la MOS, la dosis inicial de compuesto, los iones del medio o la estructura original del suelo y, por último, estudios de toxicidad de los compuestos seleccionados usando plantas de berro para ilustrar el posible efecto tóxico de este tipo de compuestos en el medio ambiente sobre organismos vivos.

Es de esperar que la información proporcionada aumente el conocimiento que existe acerca de este tipo de compuestos y nos ayude a predecir el comportamiento de los mismos en diferentes escenarios y permita una evaluación de riesgos más adecuada de suelos afectados por la presencia de contaminantes orgánicos.



III. Materiales y
Métodos.

III.1. MATERIALES.

III.1.1. Hidrocarburos aromáticos policíclicos sustituidos.

III.1.1.1. Benzofurano.

El benzofurano (2,3-benzofurano) es un compuesto heteroaromático formado por la unión de un anillo de benceno y otro de furano. Su solubilidad en agua es de 678 mg/l a 25° C (Eberhardt y Grathwohl, 2002), tiene una presión de vapor de 14 mmHg a 25° C y su peso molecular es de 118.14 g/mol. Es un líquido claro, de color amarillo verdoso, cuyo rango de ebullición está entre 170-173°C, su densidad es de 1.095 g/cm³ y es estable, aunque puede decolorarse al exponerse a la luz (Sigma-Aldrich). El compuesto utilizado en este trabajo ha sido el de alta pureza (>99%) y fue suministrado por Sigma-Aldrich Química, S. A. (Alemania).

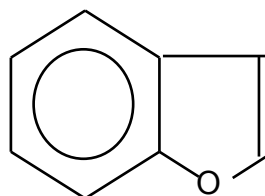


Figura III.1. Benzofurano.

El benzofurano es un líquido aceitoso de aroma dulce producido durante la transformación del carbón a aceite mineral. No tiene uso comercial, pero la fracción del petróleo que lo contiene se usa para fabricar un plástico llamado resina de cumareno-indeno. Esta resina resiste la corrosión y se usa para hacer pinturas y barnices. La resina también confiere resistencia al agua y se usa en revestimientos para productos de papel y telas. Se encuentra en ciertas baldosas de asfalto. La resina ha sido aprobada para su uso en envases de alimentos y como capa protectora en frutas cítricas. No se sabe con que frecuencia se usa la resina ni tampoco si algo de benzofurano de los envases pasa a los alimentos (Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades, 1992).

El benzofurano puede dar productos de descomposición peligrosos como el monóxido de carbono y el dióxido de carbono. Este hecho unido a su especial riesgo para el hombre y el medio ambiente por sus posibles efectos cancerígenos, así como carácter

perjudicial para los organismos acuáticos, ha sido el responsable de las medidas de seguridad utilizadas en la manipulación de dicho producto.

III.1.1.2. Dibenzofurano.

El dibenzofurano es un compuesto heteroaromático de tres anillos formado por la unión de dos anillos de benceno a uno de furano. Tiene una presión de vapor de 0.0175 mm Hg a 25° C. Su solubilidad en agua es de 5 mg/l a 25° C, su peso molecular es de 168.19 g/mol, su punto de fusión está entre 86 y 87° C y su punto de ebullición es de 287° C. El compuesto utilizado en este trabajo ha sido el de alta pureza (>99%) y fue suministrado por Sigma-Aldrich Química, S. A. (Alemania).

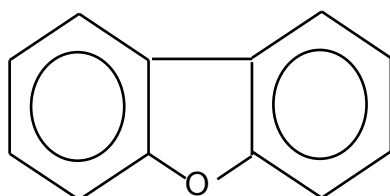


Figura III.2. Dibenzofurano.

El dibenzofurano es un sólido cristalino de color blanco a temperatura ambiente. Es un producto importante de muchos procesos de combustión como, por ejemplo, la combustión de maderas, carbón, desechos, combustibles, etc. También ha sido identificado en el humo del tabaco (U.S. Department of Health and Human Services, 1993). La mayoría del dibenzofurano que es emitido a la atmósfera se encuentra en fase gaseosa y es fotodegradado rápidamente produciendo radicales hidroxilo, aunque una pequeña parte del dibenzofurano emitido a la atmósfera se encuentra en fase particulada y es relativamente resistente a la degradación atmosférica. La llegada al suelo o agua del compuesto que se encuentra en la atmósfera puede producirse por una deposición húmeda mediante el agua de lluvia o la nieve. Este tipo de deposición afecta tanto a la fase gaseosa como a la fase particulada. También existe una deposición seca que afecta principalmente a la fase particulada. Se han encontrado elevadas concentraciones de dibenzofurano en aguas subterráneas próximas a sitios contaminados con creosota (Johansen *et al.*, 1997). Este compuesto ha sido clasificado como un contaminante a tener en cuenta por la EPA's Great Waters Program debido a su persistencia en el medio ambiente, su potencial

bioacumulación y por su toxicidad en humanos y en el medio ambiente (U.S. Environmental Protection Agency, 1994).

III.1.1.3. Acridina.

La acridina es un compuesto heteroaromático de tres anillos formados por la unión de dos anillos de benceno a uno de piridina. Su solubilidad en agua es de 47 mg/l, su peso molecular es de 179.2 g/mol, su punto de fusión es de 107° C y su punto de ebullición es de 346° C. La acridina tiene un carácter básico débil, siendo su pK_a de 5.6. El compuesto utilizado en este trabajo ha sido el de alta pureza (97%) y fue suministrado por Sigma-Aldrich Química, S. A. (Alemania).

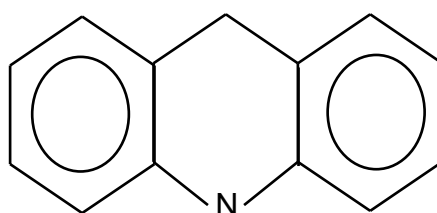


Figura III.3. Acridina.

La acridina fue aislada por primera vez en 1890 por Carl Gräbe y Heinrich Caro del alquitrán del carbón. Está presente en la industria de los colorantes y tintes. Algunos derivados de la acridina tienen importantes propiedades antisépticas como por ejemplo la proflavina.

III.1.2. Ácidos aromáticos.

III.1.2.1. Picloram.

El picloram (ácido 4-amino-3,5,6-tricloropicolínico) es un ácido débil de $pK_a=2.3$. Es un sólido cristalino de peso molecular 241.5 g/mol, solubilidad en agua 430 mg/l a 25° C (Worthing y Hance, 1991) y un coeficiente de reparto octanol/agua como $\log K_{ow}$ de 0.1461. El compuesto utilizado en este trabajo ha sido el de alta pureza (97.5%) suministrado por Dr. Ehrenstorfer Lab. (Alemania).

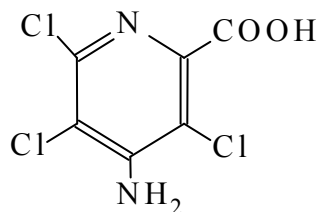


Figura III.4. Picloram.

El picloram es un herbicida de translocación de tipo auxínico muy persistente, bien absorbido por vía radicular y foliar, que actúa produciendo epinastia por sustitución de la auxina natural e inhibiendo la síntesis de proteínas. Está recomendado para el control de dicotiledóneas herbáceas y leñosas anuales y perennes en praderas de gramíneas y terrenos sin cultivos (Liñan, 1994).

III.1.2.2. Ácido o-ftálico.

El ácido o-ftálico (ácido 1,2-bencenodióico) es un ácido débil de $pK_{a1}=2.9$ y $pK_{a2}=5.5$. Su aspecto es el de un polvo cristalino, de peso molecular 166.13 g/mol, tiene una solubilidad en agua de 5740 mg/l a 20° C y su coeficiente de reparto octanol/agua como log K_{ow} es 0.79. El compuesto utilizado ha sido el de alta pureza (98%) suministrado por Sigma-Aldrich Química, S. A. (Alemania).

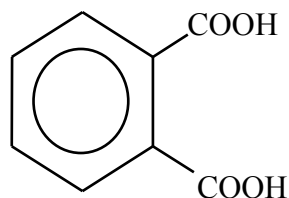


Figura III.5. Ácido o-ftálico.

El ácido ftálico aparece como producto intermedio en las rutas de degradación de muchos PAHs como el fenantreno (Ortiz *et al.*, 2003), pireno (Kim *et al.*, 2004) y antraceno

(Van Herwijnen *et al.*, 2003). También está en la ruta de degradación de algunos pesticidas como, por ejemplo, el naptalam (Talebpour *et al.*, 2003). Los ésteres del ácido ftálico, cuya hidrólisis origina el ácido correspondiente, se emplean en la fabricación de PVC, acetato de polivinilo, celulosa y poliuretanos, que debido a su estabilidad, fluidez y baja volatilidad se usan como plastificantes que pueden estar presentes en materiales de construcción, muebles, ropa, en comida (para empaquetar) y productos médicos (Jianlong *et al.*, 2003). Son también usados en pinturas, adhesivos, lubricantes y fragancias (Jonsson *et al.*, 2003).

III.1.2.3. Ácido salicílico.

El ácido salicílico (ácido 2-hidroxibenzoico) es un ácido aromático de bajo peso molecular de $pK_a = 2.9$. Su aspecto físico es de un polvo cristalino incoloro o de cristales en forma de agujas, tiene un peso molecular de 138.1 g/mol, un coeficiente de reparto octanol/agua como $\log K_{ow}$ de 2.2 y una solubilidad en agua de 1800 mg/l a 20° C. El compuesto utilizado en este trabajo fue de alta pureza (>99%) y fue suministrado por Sigma-Aldrich Química, S. A. (Alemania).

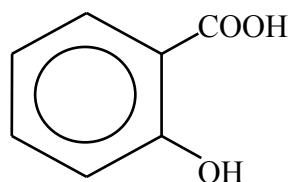
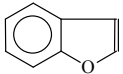
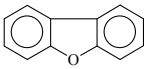
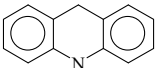
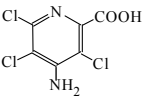
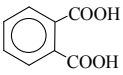
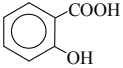


Figura III.6. Ácido salicílico.

La llegada del ácido salicílico al suelo puede tener diferentes orígenes. Al igual que el ácido ftálico, puede aparecer en los suelos como metabolito intermedio en las rutas de biodegradación de muchos PAHs (Roper, *et al.*, 2001), como por ejemplo el naftaleno (Di Gennaro *et al.*, 2001). También puede llegar al suelo como exudados de plantas, estando implicado en procesos de alelopatía (Seal *et al.*, 2004). En la industria farmacéutica, el ácido salicílico se usa en la fabricación de ácido acetilsalicílico y sus ésteres, amidas y sales son materia prima de otros productos farmacéuticos. El ácido salicílico de grado técnico se usa también en la producción de productos agroquímicos, tintes, colorantes, caucho, perfumes y resinas fenólicas.

Algunas de las propiedades más revelantes de los compuestos seleccionados se resumen en la Tabla III.1.

Tabla III.1. Algunas propiedades fisicoquímicas de los compuestos orgánicos estudiados.

Compuestos orgánicos	Fórmula	pK _a	Solubilidad en agua (mg/l)	Log K _{ow}	Presión de vapor (mmHg)	
<i>Benzofurano</i>		-	678 ⁺⁺	2.67	14 ⁺⁺	
Compuestos heteroaromáticos	<i>Dibenzofurano</i>		-	5 ⁺⁺	4.31	0.0175 ⁺⁺
	<i>Acridina</i>		5.6	47	3.40	1 ⁺⁺⁺
	<i>Picloram</i>		2.3	430 ⁺⁺	0.1461	-
Ácidos aromáticos	<i>Ácido o-ftálico</i>		2.9/5.5	5740 ⁺	0.79	-
	<i>Ácido salicílico</i>		2.9	1800 ⁺	2.2	-

⁺: Obtenido a 20° C; ⁺⁺: obtenido a 25° C; ⁺⁺⁺: obtenido a 124° C.

III.1.3. Suelos, fracciones arcilla y adsorbentes modelos.

III.1.3.1. Suelos.

Para este estudio se seleccionaron 7 suelos de diferentes regiones edafoclimáticas de Europa, uno de los suelos procedía de España (P2), tres de Dinamarca (Flakkebjerg, Borris y Askov), uno de Reino Unido (Kettering), uno de Austria (IFA) y uno de Noruega (Norway) (Figura III.7). Una vez realizada la toma de muestra de los suelos (0-20 cm), se dejaron secar al aire y se tamizaron con un espacio de malla de 2 mm, conservándolos en cámara fría a una temperatura constante de 4° C.



Figura III.7. Localización de los suelos seleccionados.

III.1.3.2. Fracciones arcilla de los suelos.

La fracción arcilla (fracción de tamaño de partícula $<2 \mu\text{m}$) de los suelos se separó por sedimentación, tras una eliminación previa de carbonatos con acetato/acético ($\text{pH}=5$) (Jackson, 1975). Una vez extraída, la fracción arcilla se saturó con Ca^{2+} por medio de tres tratamientos sucesivos con CaCl_2 0.5 M, posteriormente se lavó con agua destilada y se liofilizó.

III.1.3.3. Adsorbentes modelos.

Como modelos de materia particulada coloidal natural se utilizaron una serie de adsorbentes (individuales, binarios y ternarios) basados en tres de los componentes coloidales del suelo más activos en los procesos de adsorción (montmorillonita, óxido de hierro y ácido húmico). Estos adsorbentes habían sido previamente preparados y caracterizados en los laboratorios del IRNAS (Cruz-Guzmán, 2004). A continuación se describen brevemente los procedimientos de síntesis y caracterización.

III.1.3.3.1. Adsorbentes primarios.

El óxido de hierro ferrihidrita (Ferrih) se preparó según el método de Schwertmann y Cornell (1991) disolviendo 40 g de $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ en 500 ml de agua destilada y añadiendo 330 ml de una disolución 1 M de NaOH para elevar el pH hasta 7-8. Los últimos 20 ml se adicionan gota a gota, con una comprobación constante del pH. Por otra parte, y con el fin de eliminar el exceso de nitrato, la ferrihidrita precipitada, tras centrifugación y lavado, se dializó durante 5 días (el agua se renovó cada 6 h hasta que la conductividad alcanzó un valor $< 3 \mu\text{S}/\text{cm}$) y posteriormente se liofilizó. El sólido se almacenó a temperatura ambiente hasta su uso.

La arcilla, montmorillonita de Wyoming (SW), fue la fracción $< 2 \mu\text{m}$ obtenida por sedimentación de la esmectita Na^+ -SWy-2, proporcionada por *The Clay Minerals Society*.

El ácido húmico (AH) se extrajo con una disolución de NaOH 0.5 M del horizonte A (0-15 cm) de un histosol, según los procedimientos IHSS (Swift, 1996). Posteriormente se consiguió su precipitación con HCl 6 M y se lavó con HCl 0.1 M y HF 0.3 M y después con agua desionizada. Por último, la muestra se dializó (peso molecular de corte: 3.5 kDa) y liofilizó. La Tabla III.2 muestra algunas de las propiedades del AH utilizado.

Tabla III.2. Propiedades físico-químicas del ácido húmico utilizado.

pH	Cenizas (%)	Acidez total (meq/g)	COOH (meq/g)	OH Fenólico (meq/g)	C (%)	H (%)	N (%)	O (%)	S (%)
3.3	1.4	8.19	4.44	3.75	52.9	4.7	4.3	36.2	0.5

Haciendo interaccionar los componentes coloidales individuales entre sí, SW, Ferrih y AH, se obtuvieron asociaciones binarias y ternarias de los mismos. Los procedimientos de síntesis se detallan a continuación.

III.1.3.3.2. Asociaciones binarias.

Sistemas binarios SW-Ferrih. A dos disoluciones de 500 ml de $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ 15 mM y 30 mM, se les añadieron 10 g de SW y se agitaron durante 10 minutos. Posteriormente se les adicionó la cantidad necesaria de una disolución de NaOH hasta alcanzar un pH de 7.5, para precipitar completamente el Fe(III) presente. Las suspensiones se agitaron a 25° C durante 16 h en oscuridad, se dializaron (peso molecular de corte: 10 kDa) y se liofilizaron, y los sólidos resultantes se almacenaron a temperatura ambiente. Estos sistemas binarios

contenían cerca de un 8% y un 16% de Ferrih, respectivamente (SW-Ferrih₈ y SW-Ferrih₁₆). Asimismo, se preparó un blanco (SW-Ferrih₀) de forma similar, con la variación de la adición a 10 g de SW de 500 ml de una disolución de HNO₃ a pH 2.5 en lugar de las disoluciones de Fe(NO₃)₃ 15 ó 30 mM utilizadas anteriormente.

Sistemas binarios SW-AH. 0.4 g y 0.8 g de AH se suspendieron en 400 ml de agua. Las suspensiones se llevaron a un pH de 10 con una disolución de NaOH, con el fin de disolver el AH, y posteriormente, a un pH 6.5 con HCl 0.1 M. El siguiente paso consistió en la adición de 10 g de SW, con una posterior agitación a 25° C durante 16 h en oscuridad. Las suspensiones se dializaron (peso molecular de corte: 10 kDa) y liofilizaron, y los sólidos resultantes se almacenaron a temperatura ambiente. Estos sistemas binarios contenían cerca de un 4% y un 8% de AH, respectivamente (SW-AH₄ y SW-AH₈). También se preparó un blanco (SW-AH₀) que se obtuvo tratando la arcilla SW de forma similar, aunque sin la adición de AH.

Sistemas binarios Fh-AH. Para su síntesis se mezcló 1 l de una disolución acuosa de Fe(NO₃)₃ 0.1 M con 60 ml de una disolución de NaOH 5 M hasta alcanzar un pH de 7.5. La Ferrih precipitada se separó por centrifugación. Paralelamente, 0.4 y 0.8 g de AH se disolvieron en 400 ml de agua a pH 10 (alcanzado por la adición de NaOH). Las disoluciones de AH, tras ser llevadas a un pH de 6.5 con HCl 0.1 M, se añadieron al residuo de ferrihidrita recién precipitada. Las cantidades de AH adicionadas corresponden al 4% y 8% en contenido en AH de los sistemas (Ferrih-AH₄ y Ferrih-AH₈). Las suspensiones de Ferrih-AH se agitaron a 25° C durante 16 h en oscuridad y, posteriormente, se dializaron (peso molecular de corte: 10 kDa). Tras su liofilización, los sólidos se almacenaron a temperatura ambiente. Se preparó igualmente un blanco (Ferrih-AH₀) tratando la Ferrih precipitada de la misma forma, pero con disoluciones sin AH.

III.1.3.3.3. Asociaciones ternarias.

Sistemas ternarios SW-Ferrih-AH. Se prepararon tres disoluciones de 500 ml de Fe(NO₃)₃ 30 mM y se añadieron a cada una de ellas 10 g de SW. Con una posterior adición de 45 ml de NaOH 1 M seguida de agitación, elevamos el pH hasta 7.5 y conseguimos que precipitara el óxido de hierro sobre la arcilla. Tras centrifugar las suspensiones durante 10 minutos a 8000 r.p.m. y eliminar el sobrenadante, obtuvimos tres sistemas binarios SW-Ferrih₁₆ idénticos.

Paralelamente preparamos tres suspensiones. Una de ellas con 0.8 g de AH en 400 ml de agua, otra con 0.4 g de AH en 400 ml de agua y una tercera sin AH, para la preparación del blanco. Tras agitación, adicionamos a cada suspensión NaOH 0.1 M hasta alcanzar un pH 10, necesario para que el AH se disuelva, proceso seguido de la incorporación de HCl 0.1 M con agitación hasta pH 6.5.

Una vez efectuadas ambas líneas de pasos, a cada idéntico residuo de SW-Ferrih recién preparado se le añadió una de las tres disoluciones de AH. Tras agitación durante 16 h, diálisis y liofilización, obtuvimos los sistemas ternarios con tres concentraciones de AH distintas: 0, 4 y 8% (SW-Ferrih-AH₀, SW-Ferrih-AH₄ y SW-Ferrih-AH₈).

III.2. MÉTODOS.

III.2.1. Caracterización de los suelos, fracciones arcilla y adsorbentes modelos.

III.2.1.1. Caracterización de los suelos.

La textura de los suelos se determinó por sedimentación (Gee y Bauder, 1982). El contenido en carbono orgánico y la capacidad de intercambio catiónico (CIC) se determinó según Rhoades (1982) y Tabatabai y Bremner (1970), respectivamente. El pH fue medido en una suspensión CaCl_2 0.01 M 1:2.5 (p:p) de suelo. La distribución de tamaño de poro (de 40 a 0.004 μm) de cada suelo se determinó por porosimetría de intrusión de mercurio usando un porosímetro Carlo Erba 2000. Para la medida de porosidad, se tomó un agregado de cada suelo de aproximadamente 1 g, que se secó a 90° C durante 24 h antes del análisis de porosimetría. La superficie específica (SE) se midió por adsorción de N_2 a 77 K usando un equipo Carlo Erba Sorptomatic 1900 (Fisons Instruments, Milan). Las muestras se desgasificaron a 80° C y se mantuvieron en condiciones de vacío durante 15 h previamente a la medida de la isoterma de adsorción de N_2 . La superficie específica de las muestras se calculó por aplicación del método B.E.T. (Brunauer *et al.*, 1938) a la isoterma de adsorción de N_2 utilizando el intervalo de presiones relativas $p/p_0 = 0.05-0.25$. El área ocupada por la molécula de N_2 se consideró ser 16.2 Å (IUPAC, 1985).

III.2.1.2. Caracterización de las fracciones arcilla.

El análisis elemental de las fracciones arcilla de los suelos se llevó a cabo en un analizador elemental Carlo Erba modelo 1108. La mineralogía de las fracciones arcilla se determinó por difracción de rayos X sobre agregados orientados saturados en Mg^{2+} y K^+ , tratados con etilenglicol y calcinados a 500° C, respectivamente (Brown, 1961). La superficie específica se determinó por adsorción de N_2 siguiendo el mismo procedimiento descrito para los suelos.

III.2.1.3. Caracterización de los adsorbentes modelos.

Los adsorbentes modelos utilizados en nuestras experiencias (montmorillonita, ferrihidrita y ácido húmico, junto con sus asociaciones binarias y ternarias) se caracterizaron por análisis elemental (determinando el %C de las muestras con ácido húmico), difracción de rayos X (para muestras con montmorillonita) y superficie específica. Además, los adsorbentes con hierro se trataron con oxalato/oxálico durante 4 h a 25° C en oscuridad y

con ditionito-citrato-bicarbonato durante 16 h a 25° C para determinar su contenido en Fe (McKeague y Day, 1996). El pH se midió por equilibrado de 200 mg de sólido en 10 ml de disolución de CaCl₂ 0.01 M durante 4 h, seguido de centrifugación y de medidas del pH del sobrenadante usando un electrodo combinado de vidrio.

Los estudios de análisis elemental se realizaron usando un analizador elemental Perkin-Elmer, modelo 1106 (Perkin-Elmer Corp., Norwalk CT), determinándose sus contenidos de carbono orgánico, nitrógeno y azufre (C, N,S).

Los valores del espaciado basal de las muestras con montmorillonita se obtuvieron por difracción de rayos X, usando un difractómetro Siemens D-5000 (Siemens, Stuttgart), con una fuente de radiación CuK_α, intensidad de 30 mA, voltaje de 40 kV y una velocidad de barrido de 2°/min. Las muestras se prepararon para la obtención de agregados orientados, con el fin de incrementar la intensidad de los picos correspondientes a las difracciones de los planos basales de las láminas de arcilla. Para la preparación de los agregados se utilizaron portamuestras de vidrio sobre los que se colocaron suspensiones de las muestras en agua destilada al 2%. La evaporación lenta del agua provoca la orientación de los cristales de las arcillas y la disposición paralela de sus láminas estructurales.

Los valores de superficie específica (SE) se obtuvieron mediante adsorción de N₂ a 77 K siguiendo el mismo procedimiento descrito para los suelos.

III.2.2. Experiencias con hidrocarburos aromáticos policíclicos sustituidos.

III.2.2.1. Adsorción a suelos, fracciones arcilla y adsorbentes modelos.

El estudio de adsorción de los hetero-PAHs a los suelos, fracciones arcilla y adsorbentes modelos se llevó a cabo determinando un coeficiente de distribución, K_d, definido como:

$$K_d = C_s/C_e$$

donde C_s (μmol/kg) es la cantidad de compuesto orgánico adsorbido a una concentración de la disolución en equilibrio C_e (μmol/l). En nuestro caso, el estudio se llevó a cabo a una concentración inicial de compuesto orgánico de 10 μM.

El estudio de adsorción con los suelos se extendió a varias concentraciones iniciales para obtener las correspondientes isotermas de adsorción. Las curvas de las isotermas de adsorción representan la cantidad de contaminante adsorbido frente a la concentración de contaminante en la disolución en equilibrio y han sido ajustadas a la ecuación de Freundlich para obtener los correspondientes coeficientes de adsorción. A continuación se detallan los métodos utilizados para los estudios de adsorción con suelos, fracciones arcillas y adsorbentes modelos.

III.2.2.1.1. Adsorción a suelos y estudios de desorción.

Para la obtención de los coeficientes de distribución, K_d , de los hetero-PAHs a los suelos se utilizaron diferentes relaciones sólido:disolución. Para benzofurano fue 2 g suelo : 10 ml de disolución 10 μM en CaCl_2 0.01 M, mientras que para dibenzofurano y acridina la relación fue 0.5 g de suelo : 10 ml de disolución 10 μM en CaCl_2 0.01 M. Las disoluciones iniciales se prepararon a partir de disoluciones 1 mM en acetona, por lo que, la cantidad de acetona en las disoluciones 10 μM fue muy pequeña (0.1 %) y no interfirió en el proceso de adsorción. Para la realización de las adsorciones se emplearon tubos de centrifuga de vidrio. Las suspensiones se agitaron 24 h y posteriormente se centrifugaron a 5000 rpm durante 15 minutos. Se tomaron 5 ml del sobrenadante que se estabilizaron con 5 ml de metanol, para posteriormente analizar la concentración del hetero-PAH por HPLC. Los experimentos se realizaron por triplicado llevando blancos sin suelos. La cantidad de compuesto adsorbido (C_s) se calculó a partir de la diferencia entre la concentración de los blancos y la concentración de los sobrenadantes (C_e).

Las isotermas de adsorción de los distintos hetero-PAHs se obtuvieron haciendo interaccionar la misma cantidad de suelo con 10 ml de disoluciones en CaCl_2 0.01 M a distintas concentraciones iniciales de compuesto orgánico (5, 10, 15 y 20 μM). El tratamiento fue el mismo descrito anteriormente. Para el caso del benzofurano también se obtuvo una isoterma de adsorción a concentraciones iniciales de 50, 100, 150 y 200 μM a los suelos Borris, Kettering, P2 y Norway.

Una vez concluidos los experimentos de adsorción se llevaron a cabo 3 desorciones sucesivas sustituyendo 5 ml de la disolución equilibrada por 5 ml de CaCl_2 0.01 M. En cada una de las desorciones se tomaron 5 ml que se estabilizaron con 5 ml de metanol y se midieron por HPLC. Estos experimentos de desorción se realizaron partiendo de las concentraciones iniciales de 20 μM de los tres hetero-PAHs, y, además, en el caso del dibenzofurano, partiendo de la concentración de 10 μM .

III.2.2.1.2. Adsorción a las fracciones arcilla.

La adsorción a las fracciones arcilla de los suelos Borris, Kettering, Askov y P2 se midió haciendo interaccionar en tubos de centrifuga de vidrio 100 mg de arcilla con 10 ml de una disolución 10 μ M en CaCl_2 0.01 M de cada uno de los hetero-PAHs, preparadas como se describe en el apartado anterior. Los experimentos se realizaron por triplicado llevando blancos sin arcilla. Tras agitar las suspensiones 24 h, éstas se centrifugaron 15 minutos a 5000 rpm, se tomaron 5 ml del sobrenadante que se estabilizaron con 5 ml de metanol y finalmente se analizó la concentración de los distintos hetero-PAHs por HPLC.

III.2.2.1.3. Adsorción a adsorbentes modelos.

La adsorción de benzofurano, dibenzofurano y acridina a los adsorbentes modelos se midió a diferentes relaciones sólido:disolución dependiendo del compuesto. En el caso del benzofurano se pesó 200 mg de los adsorbentes, excepto de ácido húmico (AH) del que se pesaron 20 mg. Para el estudio del dibenzofurano y la acridina se pesó 50 mg de los adsorbentes, excepto de ácido húmico del que se pesaron 10 mg. A los adsorbentes pesados se les añadió 10 ml de una disolución 10 μ M de cada uno de los hetero-PAHs preparadas en CaCl_2 0.01 M. Todo ello se llevó por duplicado utilizando tubos de centrifuga de vidrio y llevando blancos sin adsorbentes. Las suspensiones se agitaron durante 24 h, se centrifugaron a 5000 rpm durante 15 minutos. Se tomaron 5 ml del sobrenadante que se estabilizaron con 5 ml de metanol, midiéndose finalmente la concentración del hetero-PAH por HPLC.

III.2.2.2. Experimentos de incubación.

En los experimentos de incubación estudiamos la cinética de disipación de acridina, benzofurano y dibenzofurano en los suelos Borris, Kettering, Askov y P2. Los compuestos citados anteriormente se aplicaron a una concentración de 100 mg/kg sobre 500 g de cada uno de los suelos, siguiendo un protocolo de tratamiento basado en el propuesto por Brinch *et al.* (2002). En el caso del dibenzofurano el experimento también se realizó usando una dosis de 10 mg/kg.

El procedimiento consiste en humedecer una parte del suelo, el 25% (125 g), con 60 ml de agua destilada y aplicarle 15 ml de una disolución preparada en acetona en concentración apropiada de cada uno de los hetero-PAHs para conseguir la dosis correspondiente. Se dejó el suelo al aire durante 16 h (6 h para benzofurano debido a su

alta volatilidad) para que se evaporara la acetona. Tras la evaporación del disolvente, el 75% (375 g) restante del suelo sin tratar se mezcló y homogeneizó con el suelo tratado, añadiéndolo en porciones de 125 g. Para compensar la pérdida de disolvente tras la evaporación, el contenido en humedad fue reajustado al 15% con agua destilada. El suelo tratado fue incubado en botes de vidrio a dos temperaturas diferentes (4°C y 20°C) hasta la conclusión del experimento. El contenido de humedad se mantuvo constante a lo largo de todo el experimento reponiéndose el agua destilada que se perdía por evaporación.

Se tomaron periódicamente muestras por duplicado de 10 g de suelo que se congelaron hasta su posterior análisis. Para extraer el compuesto orgánico se utilizó como solución extractante 15 ml de acetonitrilo. La mezcla se tuvo 24 h en agitación. Seguidamente se centrifugó a 5000 rpm durante 15 minutos y el sobrenadante se analizó por HPLC. Experimentos preliminares mostraron que esta extracción recuperaba más del 95% de los compuestos recién aplicados al suelo.



Figura III.8. Fotografía de los recipientes usados en los experimentos de incubación.

III.2.2.3. Estudios de movilidad en columnas.

Los estudios de movilidad en columnas se llevaron a cabo en columnas empaquetadas a mano y en columnas inalteradas de suelo. También se estudió el efecto de la materia orgánica disuelta y de la fuerza iónica sobre la movilidad.

III.2.2.3.1. Columnas empaquetadas a mano.

Los estudios de movilidad de los hidrocarburos aromáticos policíclicos sustituidos en columnas de suelo empaquetadas a mano se llevaron a cabo en columnas de vidrio de 20 cm de longitud y 3 cm de diámetro interno (Figura III.9). En la parte inferior de la columna se colocó lana de vidrio y 10 g de arena de mar de grano grueso (suministrada por Panreac) para minimizar las pérdidas de suelo y evitar la contaminación de los lixiviados con partículas de suelo. Las columnas fueron empaquetadas con 180 g aproximadamente de suelo, añadiendo 10 g de arena de mar de grano grueso sobre la superficie del suelo, en la parte superior de la columna. Los experimentos se llevaron a cabo por duplicado.

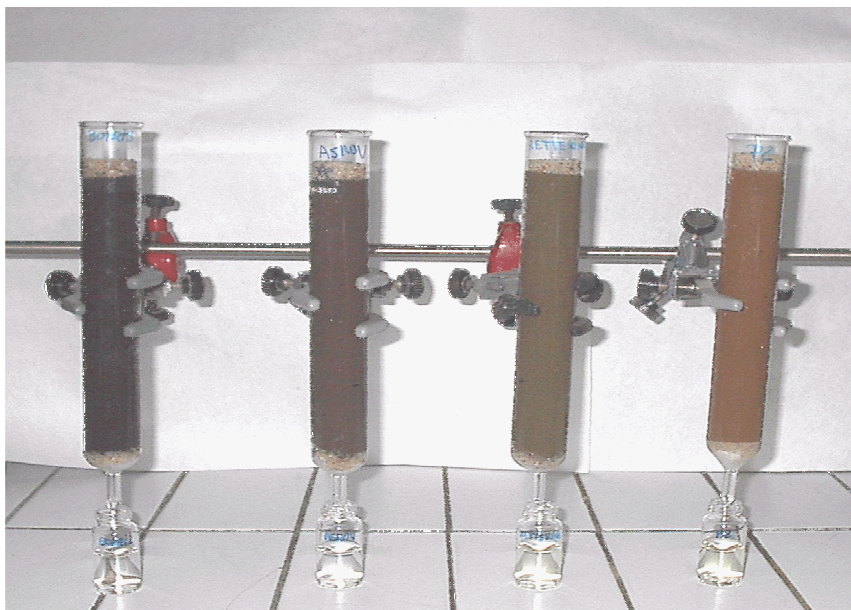


Figura III.9. Fotografía de las columnas de suelo empaquetadas a mano durante el estudio de movilidad de los hidrocarburos aromáticos policíclicos sustituidos.

Las columnas se saturaron con 90 ml de agua destilada y se dejaron drenar durante 24 h. Se calculó el volumen de poro restando la cantidad drenada a la añadida; el resultado fue 55 ml para los suelos Kettering, Askov y P2, y 45 ml para el suelo Borris. Asumiendo una densidad del suelo de 1.35 g/cm^3 y una profundidad de 7.4 cm, el rango de aplicación de los hetero-PAHs correspondió a 100 kg/ha, excepto para el dibenzofurano que se aplicó a 10 y 100 kg/ha. Los compuestos se aplicaron disueltos en acetona y tras dejar evaporar la acetona durante aproximadamente 1 hora, las columnas se eluyeron diariamente con 15 ml de agua destilada. Los lixiviados se recogieron diariamente y se midieron por HPLC. Al final del experimento se tomaron muestras de 50 g aproximadamente de diferentes profundidades de las columnas (0-5, 5-10, 10-15 y 15-20 cm de profundidad). Se hicieron extracciones de los hetero-PAHs dejando agitar durante 24 h las muestras de suelo con 100 ml de acetonitrilo a 20°C . Posteriormente, se centrifugó 30 minutos a 5000 rpm y se midió por HPLC para determinar la concentración existente de hetero-PAHs a las diferentes profundidades.

Para estudiar el efecto de la materia orgánica disuelta en el comportamiento de los hetero-PAHs se empaquetaron columnas de suelo Borris y P2 que, tras saturarse con agua destilada, se eluyeron diariamente con 15 ml de un extracto de materia orgánica disuelta. Este extracto se preparó a partir de una enmienda orgánica líquida, Fertiormont Líquido (Fertilizantes Montaña, España), diluyendo 25 g del mismo en 500 ml de agua destilada. La cantidad de carbono orgánico disuelto del extracto fue de 6 g/l (Cox *et al.*, 2000).

En el caso de la acridina, al tener propiedades ácido-base, se estudió la influencia de la presencia de iones en la disolución del suelo en su movilidad. Para ello se empaquetaron columnas de los suelos Borris y P2 que, tras saturarse con agua destilada y aplicar el compuesto a una dosis de 100 kg/ha, se eluyeron diariamente con 15 ml de CaCl_2 0.01 M.

III.2.2.3.2. Columnas inalteradas.

El estudio de lixiviación de dibenzofurano en columnas inalteradas de suelo P2 se llevó a cabo para estudiar la influencia de la estructura del suelo en el comportamiento de esta molécula.

Para las columnas de suelo inalterado se usaron tubos de PVC de 20 cm de profundidad por 20 cm de diámetro interno (Figura III.10). Para estas columnas se utilizó el

suelo P2, procedente de una parcela de la finca experimental del IRNAS en Coria de Río (Sevilla).



Figura III.10. Fotografía de las columnas inalteradas de suelo P2 utilizadas para el estudio de movilidad de dibenzofurano. Detalle de la toma de muestra con barrena realizada en las columnas inalteradas de suelo P2.

Las columnas se saturaron con agua destilada, dejando drenar durante 24 h. Se aplicó dibenzofurano, disuelto en acetona, en una dosis de 100 kg/ha. Tras dejar evaporar la acetona durante aproximadamente 1 hora, las columnas se eluyeron diariamente con 600 ml de agua destilada o con 600 ml de extracto de materia orgánica disuelta para ver su influencia en la lixiviación. El extracto de materia orgánica disuelta se obtuvo de la misma manera que hemos descrito en el apartado anterior.

Los lixiviados se recogieron diariamente y se midieron por HPLC. Al final del experimento se tomaron muestras con una barrena a diferentes profundidades de las columnas (0-5, 5-10, 10-15 y 15-20 cm de profundidad, ver Figura III.10) y se extrajo el dibenzofurano existente en cada muestra de la manera que hemos descrito en el apartado anterior. Los experimentos se realizaron por triplicado.

III.2.2.4. Estudios de toxicidad.

El estudio de toxicidad se llevó a cabo en el laboratorio por medio de bioensayos realizados con berro (*Lepidium sativum*), planta dicotiledónea, herbácea, anual y de hoja ancha. Se seleccionó esta planta por su elevada sensibilidad a la contaminación y su rápida germinación (menos de 48 horas a una temperatura de 10 a 15° C) (Maila y Cloete, 2002; Gehringer.*et al.*, 2003; Macias *et al.*, 2008) Se utilizaron macetas de plástico de 7 cm de alto por 8.5 cm de diámetro, a las que se les añadió lana de vidrio, colocada en la base de la maceta, para evitar pérdidas de suelo, seguida de 30 g de arena de mar de grano grueso (suministrada por Panreac) y de 250 g de suelo P2 previamente secado al aire. Las macetas se acondicionaron añadiéndoles agua hasta alcanzar la saturación y, tras 24 horas, se sembraron 15 semillas de la planta (suministradas por Royalffleur, Francia) en cada maceta, distribuyéndolas uniformemente por toda la superficie de la maceta y cubriéndolas con una capa de 5 g de suelo para favorecer la germinación. Tras la siembra, se añadió una disolución acuosa de los hetero-PAHs a las macetas, para dar concentraciones de 100, 500, 1000 y 5000 mg/kg. El experimento se hizo por duplicado y con macetas control (sin adición de hetero-PAH).

Durante todo el experimento la humedad se mantuvo regando diariamente con 10 ml de agua destilada a cada maceta. El efecto de los hetero-PAHs sobre la germinación de las plantas se estudió durante 13 días, por control visual del número de semillas germinadas, el crecimiento de las mismas y, finalmente, por determinación del peso de las plantas al final del experimento.



Figura III.11. Fotografía de las macetas utilizadas para realizar los bioensayos con hetero-PAHs.

III.2.2.5. Análisis de los hetero-PAHs.

El método analítico utilizado para la determinación de los de los hetero-PAHs fue la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC). Las condiciones aplicadas al análisis fueron las siguientes: la mezcla eluyente se aplicó a un flujo de 1 ml/min, la columna usada fue Novapack C18 (150 mm de longitud por 3.9 mm de diámetro interno), el volumen de inyección fue de 25 μ l, y se usó la detección UV. La mezcla eluyente usada para la determinación de los hetero-PAHs fue 50% acetonitrilo:50% agua para benzofurano y acridina y 70% acetonitrilo:30% agua para dibenzofurano (Tabla III.3). Para las medidas de benzofurano se usó la longitud de onda 243 nm, para dibenzofurano 280 nm y para acridina 250 nm (Tabla III.3). Se usaron patrones externos para la calibración. En la Figura III.12, a título informativo, aparecen los cromatogramas correspondientes al patrón 10 μ M de cada uno de los hetero-PAHs junto con su respectivo espectro de absorción.

Tabla III.3. Condiciones cromatográficas empleadas para el análisis de cada uno de los hetero-PAHs.

Hetero-PAH	Volumen de inyección (µl)	Tiempo de análisis (min.)	Tiempo de retención (min.)	λ de extracción (nm)	Flujo mezcla eluyente (ml/min)	Fase móvil
<i>Benzofurano</i>	25	6	4.3	243	1	50% H ₂ O 50% Acetonitrilo
<i>Dibenzofurano</i>	25	6	4.6	280	1	30% H ₂ O 70% Acetonitrilo
<i>Acridina</i>	25	6	4.2	250	1	50% H ₂ O 50% Acetonitrilo

Los límites de detección (LD) y cuantificación (LC) del HPLC se calcularon como la concentración correspondiente a una relación señal:ruido 3:1 y 10:1, respectivamente. Los resultados obtenidos están recogidos en la Tabla III.4.

Tabla III.4. Límites de detección y cuantificación establecidos para benzofurano, dibenzofurano y acridina.

Hetero-PAH	LD (µM)	LC (µM)
<i>Benzofurano</i>	0.02	0.07
<i>Dibenzofurano</i>	0.01	0.06
<i>Acridina</i>	0.01	0.05

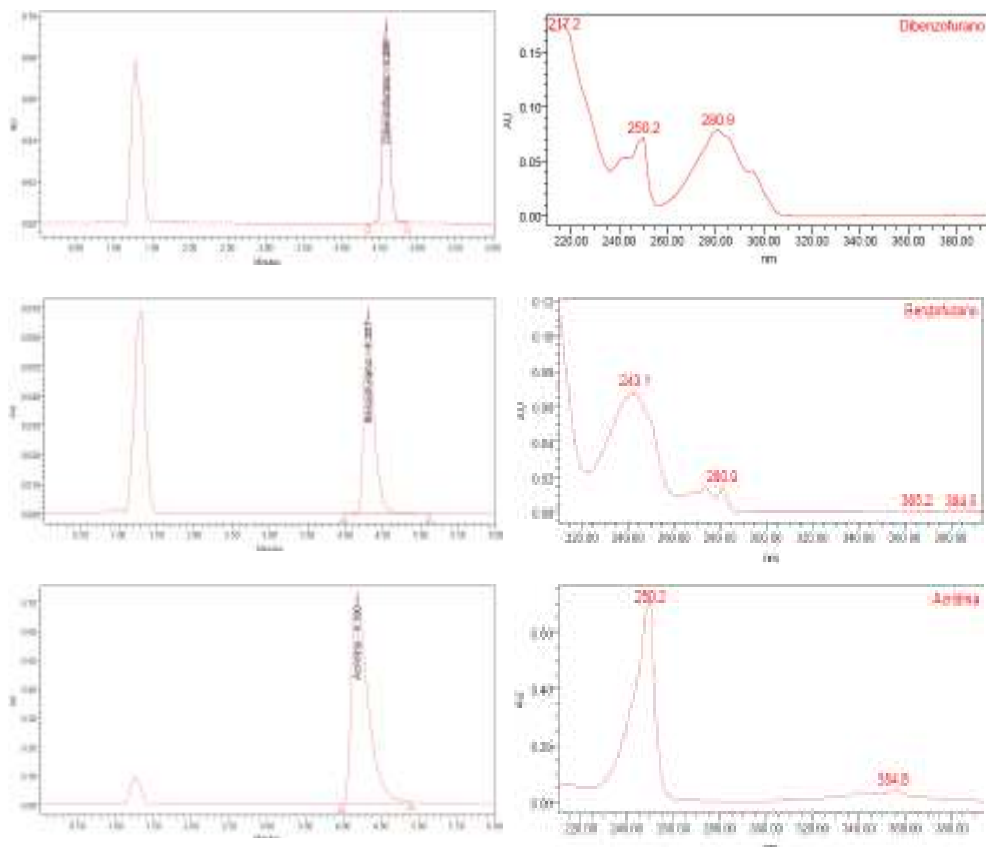


Figura III.12. Cromatogramas obtenidos para cada uno de los hetero-PAHs con una disolución patrón 10 μM junto con sus respectivos espectros de absorción.

III.2.3. Experiencias con ácidos aromáticos.

III.2.3.1. Cinéticas de disipación de los ácidos aromáticos en los suelos.

Debido a la escasa persistencia de los ácidos salicílicos y o-ftálico se realizó un diseño experimental para evaluar la persistencia y la adsorción de forma simultánea. Las cinéticas de disipación se obtuvieron tomando 50 g de suelo y añadiéndoles 100 ml de una disolución 10 μM de ácido salicílico, ácido o-ftálico o picloram, manteniéndose una temperatura de $20 \pm 2^\circ \text{C}$ durante todo el experimento. Tras la adición de los ácidos aromáticos ($t=0$), se agitó y se tomó una muestra de 2 ml de disolución sobrenadante que se estabilizó con 2 ml de metanol, se filtró y se analizó por HPLC. En experimentos preliminares se comprobó que la concentración de los ácidos ftálico y salicílico en extractos

de suelo disminuía rápidamente probablemente como consecuencia de una rápida biodegradación. Por este motivo se estabilizaron los sobrenadantes con metanol manteniéndose, de esta manera, constante la concentración del compuesto al inhibir su posible degradación. Se tomaron muestras sucesivas durante 7 días agitando frecuentemente la disolución. Todo ello se llevó a cabo por duplicado para cada suelo y cada compuesto, en botes de topacio de 125 ml de capacidad. También se llevaron botes con la disolución pero sin suelos como controles. A determinados tiempos, se tomaron muestras de 5 g de los suelos para determinar la concentración de los ácidos aromáticos en la fase sólida, usando como extractante la mezcla eluyente usada para el análisis por HPLC de los compuestos (ver apartado III.2.3.5.). La suspensión se agitó durante 24 horas, se centrifugó y se midió la concentración de ácidos aromáticos extraídos por HPLC. En experimentos previos se vio que estos métodos de extracción recuperaban más de un 95% del compuesto recién aplicado al suelo. Se consideró que la diferencia entre la cantidad inicial aplicada y la cantidad medida en la disolución más la recuperada del suelo se debió a degradación o adsorción irreversible de los ácidos aromáticos. Las cinéticas se obtuvieron por duplicado. Los experimentos con ácido salicílico se hicieron también con concentración inicial de 1 mM.

III.2.3.2. Adsorción de los ácidos aromáticos a las fracciones arcilla y a los adsorbentes modelos.

III.2.3.2.1. Adsorción a las fracciones arcilla.

La adsorción de los ácidos aromáticos a las fracciones arcilla de los suelos (Borris, Kettering, Askov y P2) se midió tomando 50 mg de arcilla de cada suelo, a los cuales se les añadió 10 ml de una disolución 10 μ M de ácido salicílico, ácido o-ftálico o picloram preparada en CaCl_2 0.01 M. Además, se llevó un blanco con la disolución sin adsorbente y todo ello por duplicado. La experiencia se realizó en tubos de centrifuga de vidrio. Tras agitar 24 horas, se centrifugó durante 15 minutos a 5000 r.p.m., se tomaron 2 ml del sobrenadante y se estabilizaron con 2 ml de metanol. Finalmente, se midió la concentración de ácido aromático en los sobrenadantes por HPLC filtrando previamente las muestras. Para estudiar la influencia del CaCl_2 en la adsorción a las fracciones arcilla, los experimentos de adsorción con ácido salicílico se repitieron usando una disolución inicial 10 μ M de este ácido aromático preparada en agua destilada.

III.2.3.2.2. Adsorción del ácido salicílico a los adsorbentes modelos.

La adsorción del ácido salicílico a los adsorbentes modelos se estudió pesando 50 mg de los adsorbentes, excepto el ácido húmico (AH) del que se pesa 10 mg, y añadiéndoles 10 ml de una disolución 10 μ M de ácido salicílico preparada en CaCl_2 0.01 M. Todo ello se realizó por duplicado, llevando además un blanco con la disolución sin adsorbente modelo. Se agitó 24 horas, se centrifugó durante 15 minutos a 5000 r.p.m. y se tomaron 2 ml de sobrenadante estabilizándolos con 2 ml de metanol y, finalmente, se midió la concentración de ácido salicílico en el sobrenadante por HPLC filtrando previamente.

III.2.3.3. Estudios de movilidad de los ácidos aromáticos en columnas de suelo.

Las columnas de vidrio fueron las mismas que se utilizaron para estudiar la movilidad de los hidrocarburos aromáticos policíclicos sustituidos y se empaquetaron de manera similar con los mismos suelos (Borris, Kettering, Askov y P2).

Las columnas se saturaron con agua destilada y se dejaron drenar 24 horas. Los ácidos aromáticos se añadieron a las columnas en forma de disoluciones acuosas en concentraciones apropiadas para una aplicación de 10 kg/ha. En el caso del ácido salicílico también se utilizó una dosis de aplicación de 100 kg/ha. La experiencia se hizo por triplicado para cada compuesto y suelo. Las columnas se regaron diariamente con 15 ml de agua destilada, midiéndose el volumen lixiviado y estabilizándolo con 5 ml de metanol. Las muestras recogidas se analizaron por HPLC. El estudio en columnas se realizó hasta que se dejó de detectar el compuesto aromático en los lixivados. Al final del experimento de lixiviación, se procedió a la extracción de los ácidos aromáticos de muestras de diferentes profundidades del suelo de las columnas (0-5, 5-10, 10-15 y 15-20 cm de profundidad) con 100 ml de disolución extractante por agitación mecánica a 20° C durante 24 h. Como disolución extractante para cada ácido aromático se empleó la misma mezcla usada para el análisis por HPLC. La suspensión se centrifugó, se filtró y se analizó por HPLC para determinar la concentración residual de cada ácido a diferentes profundidades del suelo de las columnas. Ensayos preliminares mostraron que los procedimientos de extracción usados recuperaban más del 95 % de la cantidad de compuesto aplicado.

III.2.3.4. Estudio de toxicidad del ácido salicílico.

El estudio de toxicidad con el ácido salicílico se llevó a cabo por medio de bioensayos realizados con berro (*Lepidium sativum*) utilizando las mismas macetas usadas para los hidrocarburos aromáticos policíclicos sustituidos y preparándolas de igual manera.

Se añadieron 5 ml de una disolución acuosa de ácido salicílico a las macetas para dar concentraciones de 200 y 1000 mg/kg. El experimento se hizo por duplicado y con macetas control (sin adición de ácido salicílico). Durante todo el experimento, la humedad se mantuvo regando diariamente, añadiéndole 10 ml de agua destilada a cada maceta. El efecto del ácido salicílico sobre la germinación de las plantas se estudió durante 4 semanas, por control visual del crecimiento y por pesada de la biomasa al final del experimento.



Figura III.13. Fotografía de unas macetas utilizadas en el ensayo de toxicidad.

III.2.3.5. Análisis de los ácidos aromáticos.

El método analítico utilizado para la determinación de los ácidos aromáticos fue la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC). Se usó un cromatógrafo Waters 600E acoplado con un detector diodo-array Waters 996. Las condiciones aplicadas al análisis fueron las siguientes: la mezcla eluyente se aplicó a un flujo de 1 ml/min, la columna usada

fue Novapack C18 (150 mm de longitud por 3.9 mm de diámetro interno), el volumen de inyección fue de 25 µl, y se usó la detección UV. La mezcla eluyente consistía en 75% H₃PO₄ (diluido hasta pH=2):25% metanol para picloram, 55% H₃PO₄ (diluido hasta pH=2):45% metanol para ácido salicílico, 80% H₃PO₄ (diluido hasta pH=2):20% metanol para ácido ftálico (Tabla III.5). La longitud de onda usada para la cuantificación fue 225 nm para picloram, 302 nm para ácido salicílico, y 230 nm para ácido ftálico, usando patrones externos para la calibración (Tabla III.5). En la Figura III.10, a título informativo, aparecen los cromatogramas correspondientes al patrón 10 µM de cada uno de los ácidos aromáticos junto con su respectivo espectro de absorción.

Tabla III.5. Condiciones cromatográficas empleadas para el análisis de cada uno de los ácidos aromáticos.

Ácido aromático	Volumen de inyección (µl)	Tiempo de análisis (min.)	Tiempo de retención (min.)	λ de extracción (nm)	Flujo mezcla eluyente (ml/min)	Fase móvil
<i>Ácido salicílico</i>	25	8	5.1	302	1	55% H ₃ PO ₄ (pH=2) 45% Metanol
<i>Ácido o-ftálico</i>	25	7	3.8	230	1	80% H ₃ PO ₄ (pH=2) 20% Metanol
<i>Picloram</i>	25	9	6.0	225	1	75% H ₃ PO ₄ (pH=2) 25% Metanol

Los límites de detección (LD) y cuantificación (LC) del HPLC se calcularon como la concentración correspondiente a una relación señal:ruido 3:1 y 10:1, respectivamente. Los resultados obtenidos están recogidos en la Tabla III.6.

Tabla III. 6. Límites de detección y cuantificación establecidos para ácido salicílico, ácido o-ftálico y picloram.

Ácido aromático	LD (µM)	LC (µM)
<i>Ácido salicílico</i>	0.03	0.08
<i>Ácido o-ftálico</i>	0.03	0.09
<i>Picloram</i>	0.01	0.03

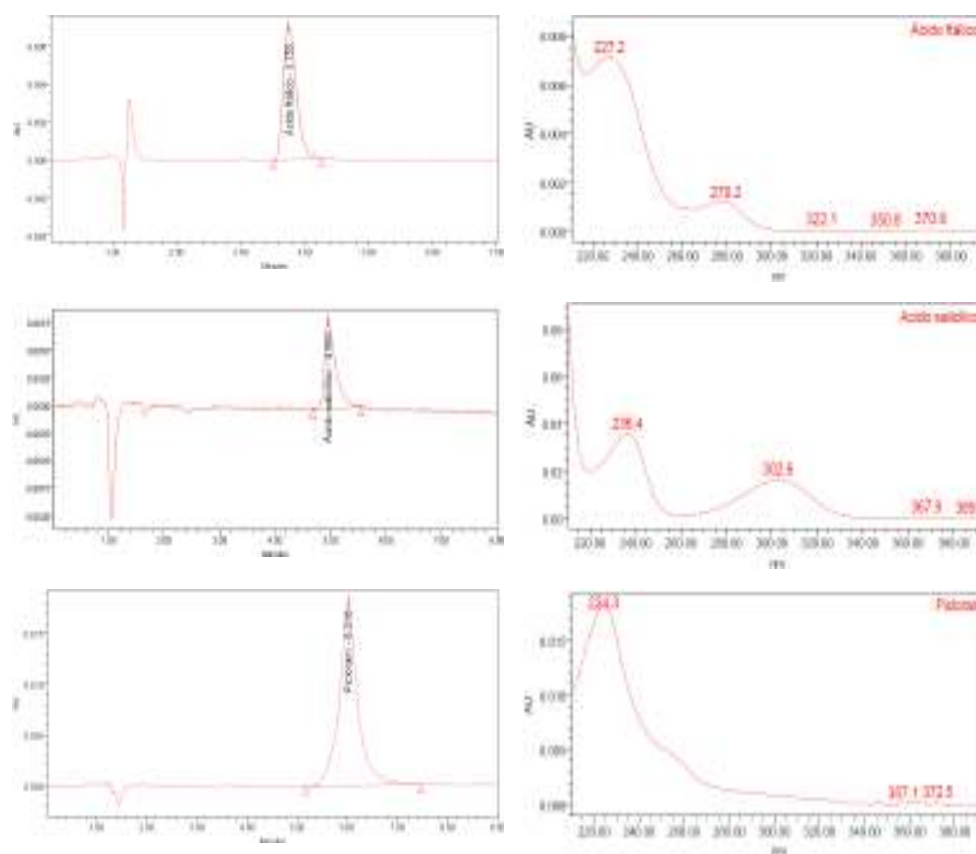
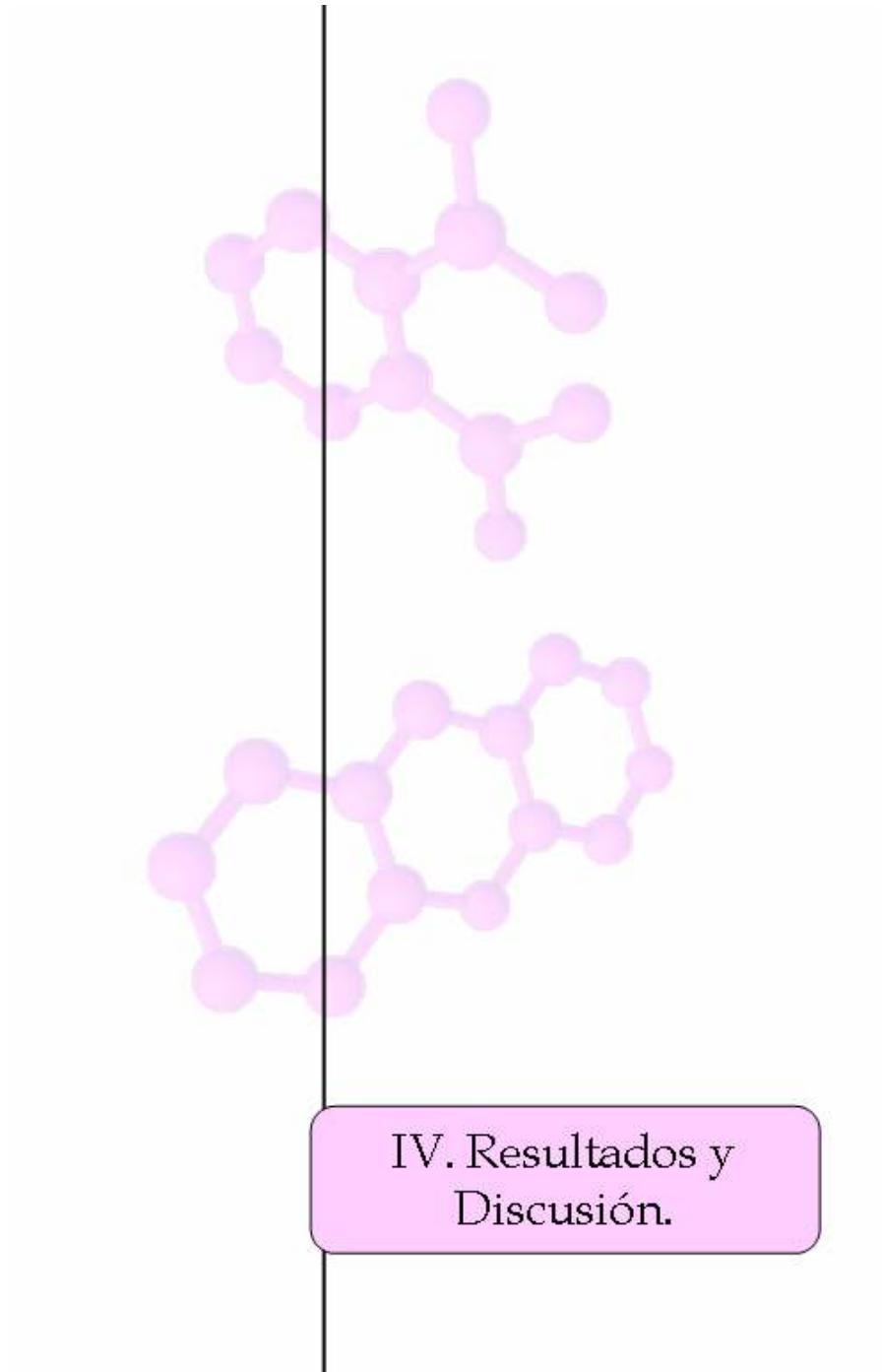


Figura III.14. Cromatograma obtenido para cada uno de los ácidos aromáticos con una disolución patrón 10 μ M junto con sus respectivos espectros de absorción.



IV. Resultados y
Discusión.

IV.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS SUELOS, FRACCIONES ARCILLA Y ADSORBENTES MODELOS.

IV.1.1. Características de los suelos.

En la Tabla V.1 se presentan las principales características de los suelos usados en este trabajo.

Tabla IV.1. Características fisicoquímicas de los suelos P2, Flakkebjerg, Askov, Borris, IFA, Kettering y Norway.

Propiedades	P2	Flakkebjerg	Askov	Borris	IFA	Kettering	Norway
<i>País de origen</i>	España	Dinamarca	Dinamarca	Dinamarca	Austria	Reino Unido	Noruega
<i>Clase textural</i>	FAA	F	FA	FA	F	FAA	FA
<i>Arena (%)</i>	68.4	41.6	68.4	69.8	31.0	47.2	50.8
<i>Limo (%)</i>	10.4	36.1	18.8	20.5	36.1	24.7	30.3
<i>Arcilla (%)</i>	20.3	20.2	10.4	6.9	24.7	24.5	9.5
<i>Carbono total (%)</i>	0.65	1.25	1.39	1.67	2.45	2.13	5.49
<i>Carbono inorgánico (%)</i>	<0.1	n.d.	n.d.	n.d.	0.61	<0.1	n.d.
<i>Carbono orgánico (%)</i>	0.56	1.25	1.39	1.67	1.84	2.09	5.49
<i>CIC (cmol_c/kg)</i>	22.8	17.8	10.6	11.8	17.4	19.2	1.38
<i>pH</i>	7.3	7.1	6.3	6.4	7.7	6.7	4.0
<i>SE(N₂) (m²/g)</i>	19.5	8.8	5.3	4.4	18.1	18.5	12.0

FAA: Franco Arcillo Arenoso, FA: Franco Arenoso, F: Franco, CIC: Capacidad de Intercambio Catiónico, SE(N₂): Superficie Específica medida por adsorción de nitrógeno, n.d.: no detectado.

Los 7 suelos seleccionados para este trabajo provienen de diferentes regiones edafoclimáticas de Europa: 3 suelos de Dinamarca (Flakkebjerg, Askov y Borris), un suelo del Reino Unido (Kettering), un suelo de Noruega (Norway), uno de Austria (IFA) y uno de España (P2).

El pH de los suelos está muy próximo a la neutralidad a excepción del suelo Norway que es claramente ácido (pH=4); los suelos Askov, Borris y Kettering son ligeramente ácidos, mientras que P2, Flakkebjerg e IFA son ligeramente básicos. Todos los suelos,

excepto el Norway, son de uso agrícola, así que es posible que el pH se haya visto afectado por las prácticas agrícolas realizadas durante décadas en estos suelos.

El contenido en carbono orgánico va desde 0.56%, para el suelo P2, a 5.49% para el suelo Norway, teniendo el resto de suelos valores intermedios. El bajo contenido en carbono orgánico del suelo P2 es una característica típica de suelos de regiones mediterráneas y determina en gran medida las propiedades físico-químicas de dichos suelos. Excluyendo los suelos P2 y Norway, podemos decir que hay una variabilidad relativamente baja en el contenido en carbono orgánico de los suelos (1.25-2.09%); por ello, la variación de la CIC podría estar relacionada con el contenido en arcilla, que muestra una variabilidad bastante mayor que va desde 6.9 a 24.7%.

Casi todo el carbono total medido en los suelos corresponde a carbono orgánico, ya que no se detectó carbono inorgánico en los suelos Flakkebjerg, Askov, Borris y Norway, y se midió menos de 0.1% para los suelos P2 y Kettering. Esto indica que estos suelos tienen bajos contenidos en carbonatos. Solo el suelo IFA, con un 0.61% de carbono inorgánico, presenta cantidades apreciables de carbonatos, lo que está de acuerdo con el elevado pH de este suelo (Tabla IV.1).

Los suelos Borris, Kettering, Askov y P2 se seleccionaron para realizar la mayoría de los experimentos con ácidos orgánicos y hetero-PAHs por ser suelos muy diferentes entre sí y abarcar un amplio rango de características. En los experimentos de adsorción llevados a cabo con hetero-PAHs se utilizaron además los suelos IFA, Flakkebjerg y Norway para obtener mejores correlaciones entre la adsorción de los compuestos y las características del suelo de las que dependen. Para estudiar la influencia del pH y del contenido en materia orgánica del suelo en la movilidad de acridina se utilizó, además de los cuatro suelos mencionados, el suelo Norway.

Los estudios de *porosidad* de los suelos se llevaron a cabo por adsorción de nitrógeno y obteniendo curvas de intrusión de mercurio.

Los valores de superficie específica obtenidos a partir de las isothermas de adsorción de nitrógeno de los suelos van desde 4.4 m²/g, para el suelo Borris, a 19.5 m²/g, para el suelo P2 (Tabla IV.1). Los contenidos en arcilla de los suelos muestran una alta correlación con la superficie específica ($r= 0.803$; $P=0.03$), poniéndose así de manifiesto la capacidad del nitrógeno para medir las superficies minerales. A título ilustrativo, se muestran las gráficas de las isothermas de adsorción de nitrógeno para los suelos Borris, Kettering, Askov

y P2 que fueron los seleccionados para los experimentos de persistencia y lixiviación (Figura IV.1).

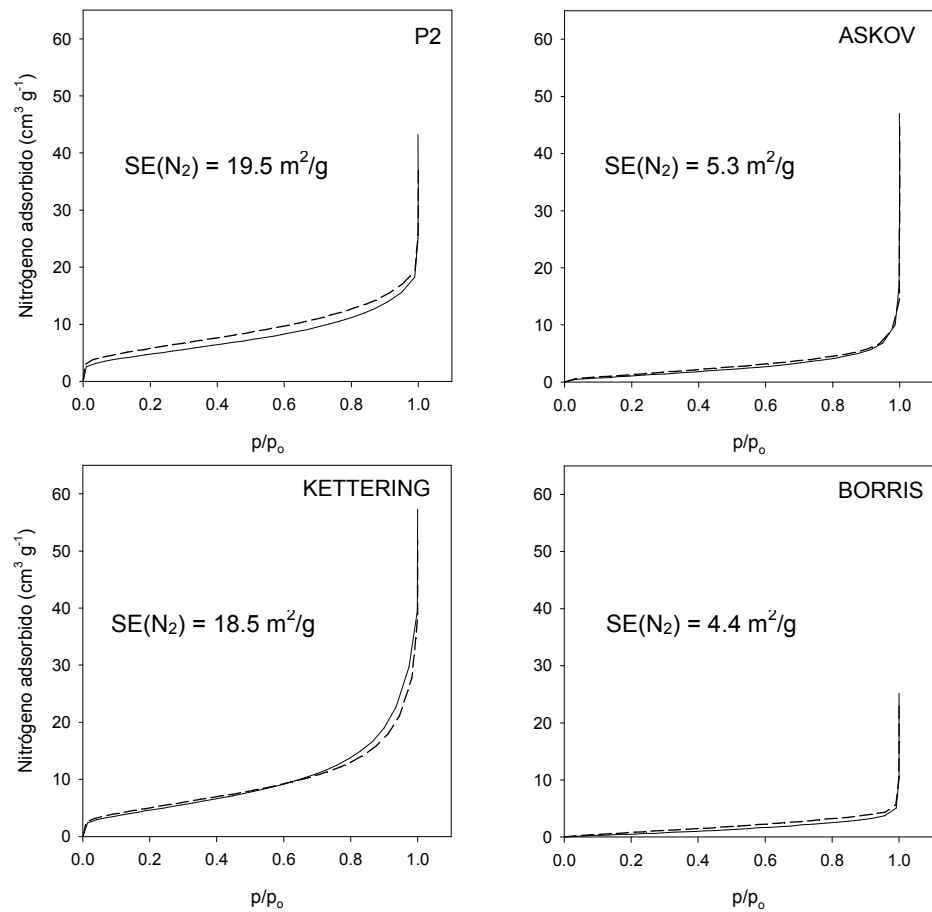


Figura IV.1. Isothermas de adsorción-desorción de nitrógeno de los suelos Borris, Kettering, Askov y P2.

Para estos 4 suelos se hizo un estudio más exhaustivo de su porosidad por porosimetría de mercurio cuyos resultados están representados en la Figura IV.2. Podemos ver que los suelos Kettering y P2 son los que tienen un mayor volumen específico en los poros de pequeño tamaño en la intrusión de mercurio y se corresponden con los que tienen una mayor superficie específica en la adsorción de nitrógeno. Además, son los que tienen mayores contenidos en arcilla.

En la Figura IV.2 podemos ver que existen distribuciones de tamaños de poro muy diferentes para cada uno de estos cuatro suelos. En el suelo Borris los picos de la

distribución del volumen relativo se encuentran desplazados hacia los macroporos, concentrándose la mayoría en el rango de radio de poro que va desde 10 a 100 μm . Este suelo, por el contrario, tiene muy pocos poros de pequeño tamaño; en el rango de radio de poro que va de 0.01 a 0.1 μm el volumen relativo es escaso. El suelo Askov tiene el pico de volumen relativo desplazado hacia poros más pequeños con respecto al suelo Borris, concretamente se encuentra en el rango de radio de poro que va desde 1 a 10 μm ; en la zona de radio de poro comprendida entre 0.001 y 0.1 μm tiene más volumen relativo que el suelo Borris. El suelo Kettering tiene el volumen relativo distribuido uniformemente a lo largo de todos los radios de poros. En la zona de los macroporos su volumen relativo es menor que el de los suelos Borris y Askov; sin embargo, la zona de radio de poro comprendida entre 0.001 y 0.1 μm presenta un volumen relativo considerablemente mayor que en el caso de los suelos Borris y Askov. El P2 tiene una distribución peculiar porque presenta 2 picos de volumen relativo, uno en la zona comprendida entre 10 y 100 μm y otro en la zona de poros de pequeño tamaño por debajo de 0.01 μm . En general, podemos decir que tenemos 4 suelos con características muy diferentes con respecto a su porosidad, lo cual, es de esperar que afecte al comportamiento de los compuestos orgánicos en cada uno de ellos.

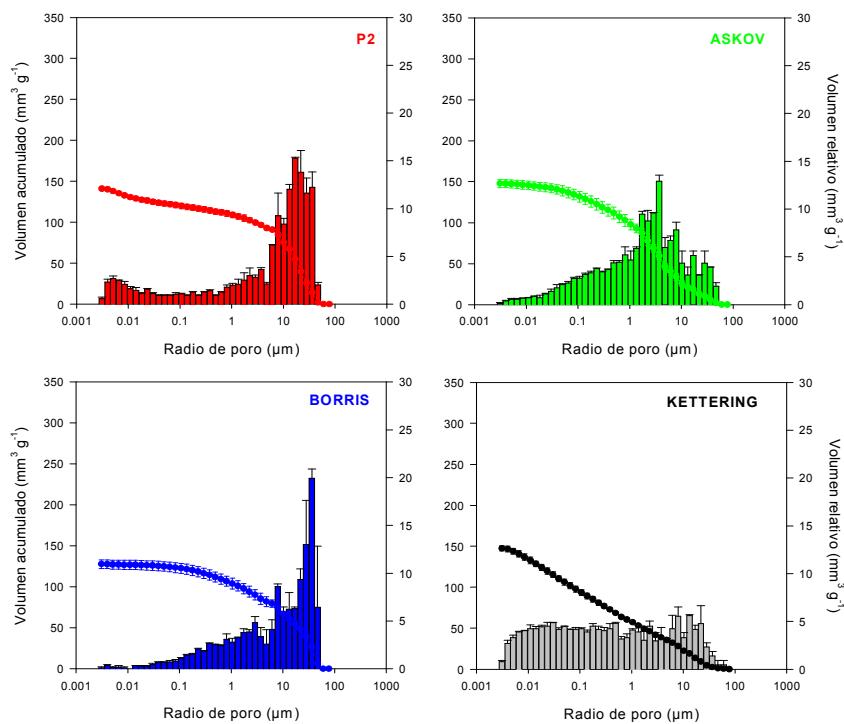


Figura IV.2. Distribución de tamaños de poros obtenida por intrusión de mercurio de los suelos Borris, Kettering, Askov y P2.

IV.1.2. Características de las fracciones arcilla.

En la Tabla IV.2 se presentan las principales características fisicoquímicas de las fracciones arcilla de los suelos Borris, Kettering, Askov y P2, recuperadas por sedimentación.

Tabla IV.2. Características de las fracciones arcilla de los suelos Borris, Kettering, Askov y P2 recuperadas por sedimentación.

Fracción arcilla	% recuperado	C(%)	N(%)	C/N	pH en CaCl ₂	Fe ₂ O ₃ (%)	SE(N ₂) (m ² /g)	Mineralogía
Borris	<2	23.90 ± 0.10	1.46 ± 0.01	16.4	5.6	2.57 ± 0.07	12 ± 1	K y I (trazas)
Askov	5	6.38 ± 0.07	0.70 ± 0.01	9.11	5.9	2.10 ± 0.23	28 ± 2	K(38%) I(24%) M/V(37%)
Kettering	15	3.30 ± 0.08	0.38 ± 0.03	8.68	5.9	4.36 ± 0.21	57 ± 1	K(80%) I(10%) M(10%)
P2	15	0.99 ± 0.04	0.16 ± 0.02	6.19	6.2	2.73 ± 0.09	109 ± 1	M(62%) K(22%) I(15%)

K: caolinita, I: Illita, M: montmorillonita, V: Vermiculita.

Los porcentajes recuperados de fracciones arcilla por sedimentación (Tabla IV.2) son menores que los determinados en los análisis de textura de los suelos (Tabla IV.1), aunque mantienen la misma tendencia. Esta diferencia se debe a que la recuperación no fue completa porque la extracción de arcilla se paralizó cuando el rendimiento de la misma comenzó a ser bajo.

El contenido en carbono de las fracciones arcilla (Tabla IV.2) es superior al de los suelos (Tabla IV.1), por lo que podemos decir que la materia orgánica se acumula preferentemente en la fracción arcilla de estos suelos. Es destacable el alto contenido en carbono de la fracción arcilla del suelo Borris (cerca del 24%). El pH de las fracciones arcilla es ligeramente más ácido que el de los suelos de los que provienen. Durante la extracción de la fracción arcilla, los suelos recibieron diferentes tratamientos, como la adición de CaCl₂ o la de una disolución tampón acetato/acético, que alteraron su pH original. Este puede ser el motivo de que las fracciones arcilla tengan pH tan similares.

Las superficies específicas de las fracciones arcilla de los suelos Kettering y P2 dieron valores de 57 y 109 m²/g, respectivamente, y son considerablemente más altos que los de las fracciones arcilla de los suelos Borris y Askov cuyos valores fueron 12 y 28 m²/g,

respectivamente. Esto está de acuerdo con los resultados obtenidos en las medidas de superficie específica de los suelos, ya que éstos siguen el mismo orden que el de las fracciones arcilla: P2 > Kettering > Askov > Borris. Podemos observar que existe una relación inversa entre el contenido en carbono orgánico y la superficie específica medida por adsorción de nitrógeno ($r = -0.766$; $P = 0.23$). Este hecho está de acuerdo con que la materia mineral es la que contribuye, fundamentalmente, a la superficie medida por adsorción de nitrógeno mientras que, la presencia de materia orgánica, tiene el efecto contrario (Celis *et al.*, 1997).

La Figura IV.3 muestra los difractogramas de las fracciones arcilla de los suelos Borris, Kettering, Askov y P2 sometidas a diferentes tratamientos.

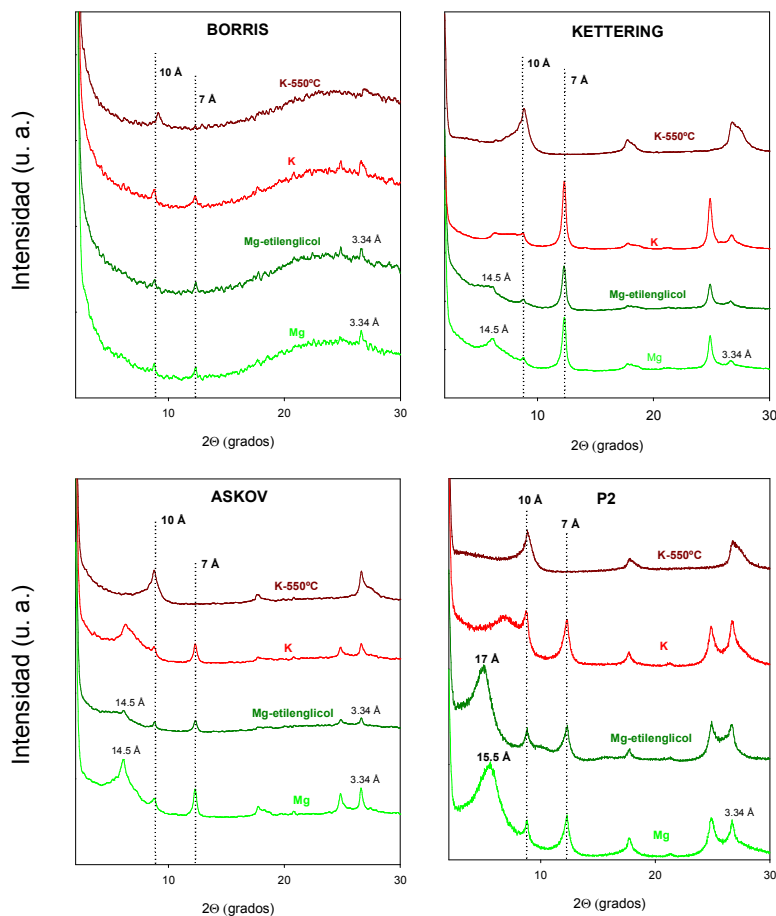


Figura IV.3. Difractograma de agregados orientados de las fracciones arcilla de los suelos Borris, Kettering, Askov y P2 sometidas a diferentes tratamientos.

Los difractogramas de las fracciones arcilla de los suelos revelaron que el suelo Borris tenía un bajo contenido en filosilicatos, detectándose sólo trazas de caolinita e illita. El filosilicato que se encontró en mayor proporción en la fracción arcilla del P2 fue la montmorillonita (62%), mientras que la caolinita fue el filosilicato predominante de la fracción arcilla del suelo Kettering (80%). El suelo Askov tiene la fracción arcilla más heterogénea, encontrándose porcentajes importantes de caolinita, illita y de una fase montmorillonita-vermiculita que mostró cierta resistencia al hinchamiento.

IV.1.3. Características de los adsorbentes modelos.

En la Tabla IV.3 se resumen las características más importantes de los adsorbentes modelos individuales, binarios y ternarios empleados en este estudio.

Tabla IV.3. Características de los adsorbentes modelos.

Adsorbente	Composición			Fe ₀ /Fe _d	pH	SE(N ₂)	d ₀₀₁ (25°C/200° C)	
	SW	Ferrih	AH					
	-----%-----					m ² /g	nm	
Adsorbentes simples	SW	100	0	0	-	7.0	25	1.50/0.97
	Ferrih	0	100	0	0.99	5.8	346	-
	AH	0	0	100	-	2.3	<1	-
Asociaciones binarias	SW-Ferrih ₀	100	0	0	-	6.3	25	1.41/0.98
	SW-Ferrih ₈	92.7	7.3	0	0.98	4.7	58	1.41/0.98
	SW-Ferrih ₁₆	86.3	13.7	0	0.93	4.8	83	1.41/0.98
	SW-AH ₀	100	0	0	-	6.5	43	1.56/0.98
	SW-AH ₄	95.7	0	4.3	-	5.2	4	1.56/0.99
	SW-AH ₈	93.3	0	6.7	-	5.2	3	1.56/0.99
	Ferrih-AH ₀	0	100	0	1.03	6.6	348	1.56/1.00
	Ferrih-AH ₄	0	96.3	3.7	1.00	6.0	334	1.56/1.00
	Ferrih-AH ₈	0	93.1	6.9	0.99	6.4	290	1.56/1.00
Asociaciones ternarias	SW-Ferrih-AH ₀	85.2	14.8	0	0.94	5.2	82	1.56/1.00
	SW-Ferrih-AH ₄	82.5	14.6	2.9	0.92	5.8	57	1.56/1.00
	SW-Ferrih-AH ₈	81.0	13.5	5.5	0.96	5.3	32	1.56/1.00

SW: montmorillonita de Wyoming; Ferrih: ferrihidrita; AH: ácido húmico; Fe₀: Fe extraíble con oxalato/oxálico; Fe_d: Fe extraíble con ditionito-citrato-bicarbonato; SE (N₂): superficie específica medida por adsorción de N₂; d₀₀₁: espaciado basal a temperatura ambiente y después de calentar a 200° C.

La composición de los adsorbentes binarios y ternarios se determinó a partir de sus contenidos en Fe y C, teniendo en cuenta los contenidos en Fe y C de las muestras de Ferrih y AH puras. En primer lugar es importante señalar que la cantidad de ferrihidrita y ácido húmico presentes en los adsorbentes binarios y ternarios fue muy similar a lo esperado según las cantidades de arcilla, $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ y sustancia húmica introducidas durante la síntesis. Además, la relación cantidad de hierro extraída con oxalato/cantidad extraída con ditionito-citrato-bicarbonato (Fe_o/Fe_d), muy cercana a la unidad, indicó que la mayor parte del hierro presente en las asociaciones era de naturaleza amorfa o de muy baja cristalinidad (McKeague y Day, 1966).

Los cambios en pH, valores de superficie específica $[\text{SE}(\text{N}_2)]$ y espaciado basal (d_{001}) observados tras la asociación de SW, Ferrih y AH entre sí (Tabla IV.3) fueron análogos a los descritos por Celis *et al.* (1998a) para asociaciones binarias y ternarias similares a las utilizadas en el presente trabajo. Así, la precipitación de Fe sobre SW dio lugar a un incremento en la SE medida por adsorción de N_2 , mientras en la asociación de AH con SW y Ferrih dio lugar a una disminución de la SE (Tabla IV.3). El AH provocó una disminución de la SE porque el N_2 es incapaz de explorar la superficie interna de las partículas húmicas (De Jonge y Mittelmeijer-Hazeleger, 1996; Celis *et al.*, 1997). La disminución es mayor en la serie de SW-AH debido al fácil bloqueo por parte de la macromolécula de ácido húmico de los bordes de la arcilla. Este efecto fue menos evidente para las asociaciones Ferrih-AH, seguramente porque gran parte de la microporosidad de la ferrihidrita no fue accesible para las macromoléculas de AH, permaneciendo libres y accesibles durante las medidas de adsorción de nitrógeno (Celis *et al.*, 1998b, 1999). Por otra parte, el aumento de la superficie específica de la montmorillonita por la presencia del óxido de hierro asociado a ella se ha atribuido a la elevada superficie de las partículas de óxido y a que éstas actúan dificultando el ordenamiento de las partículas de arcilla durante el secado de las mismas, aumentando su superficie expuesta (Celis *et al.*, 1998b).

Coincidiendo con los resultados obtenidos por Celis *et al.* (1998b) para sus asociaciones modelos binarias y ternarias, los valores de espaciado basal (d_{001}) de nuestros complejos no mostraron evidencias de penetración de Fe o polímeros de AH en el espacio interlamilar de la montmorillonita durante la síntesis (Tabla IV.3). Estos resultados están de acuerdo con los de Rengasamy y Oades (1977) y Fusi *et al.* (1993) quienes encontraron que la asociación de Fe a montmorillonita ocurría sobre la superficie externa de la arcilla, no existiendo penetración interlamilar. Por estudios de difracción de rayos X no se encontraron evidencias de ferrihidrita cristalina en ninguna de las muestras, lo que confirma la naturaleza amorfa del Fe presente en las mismas.

En cuanto a los valores de pH de los adsorbentes cabe destacar el ligero descenso del pH de las asociaciones SW-Fe precipitado, que puede atribuirse a la hidrólisis del Fe (III). La presencia de AH en las asociaciones binarias también reduce el pH de las mismas respecto al blanco correspondiente, reflejando la presencia de grupos ácidos, -COOH y Ph-OH, en los complejos (Celis *et al.*, 1998a). Es importante señalar que asociaciones binarias y ternarias similares a las empleadas en este estudio resultaron ser estables en un amplio rango de pH. Así, en asociaciones con Fe precipitado no se observó redisolución de Fe a pH superiores a 3 (Celis *et al.*, 1998a) y para los sistemas con AH, las cantidades de este componente solubilizado tras agitar 24 h en CaCl₂ 0.01 M fueron siempre inferiores al 10% del total (Celis *et al.*, 1998a).

IV.2. EXPERIENCIAS CON HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS SUSTITUIDOS.

A continuación se discuten los resultados obtenidos en los experimentos llevados a cabo con los hidrocarburos aromáticos policíclicos sustituidos seleccionados para este trabajo. Las experiencias que se realizaron fueron: estudios de adsorción y desorción a suelos, arcillas y adsorbentes modelos, estudios de incubación en los suelos, estudios de movilidad en columnas y estudios de toxicidad.

IV.2.1. Estudios de adsorción-desorción.

IV.2.1.1. Experimentos de adsorción y desorción a suelos.

En estos estudios en primer lugar se determinó un coeficiente de distribución de los hetero-PAHs a todos los suelos a concentración única de 10 μM . A continuación, el estudio se extendió a un rango de diferentes concentraciones iniciales mediante la obtención de isothermas de adsorción y, para suelos seleccionados, también se obtuvieron las correspondientes curvas de desorción.

IV.2.1.1.1. Coeficientes de distribución a concentración única.

En la Tabla IV.4 se presentan los coeficientes de distribución (K_d) obtenidos en los experimentos de adsorción de los hetero-PAHs a suelos a una concentración inicial 10 μM de los mismos. Los valores de K_{d-oc} se determinaron dividiendo K_d por el contenido en carbono orgánico de cada suelo. Junto con estos datos también adjuntamos, a título comparativo, los datos de adsorción de fenantreno a los mismos suelos, realizados bajo condiciones experimentales similares pero con una concentración inicial de 2 μM de compuesto orgánico. Estos datos fueron extraídos de Celis *et al.* (2006).

Tabla IV.4. Coeficientes de distribución (K_d) de benzofurano, dibenzofurano y acridina en suelos. A título comparativo se dan los coeficientes de adsorción de fenantreno a los mismos suelos extraídos de Celis *et al.* (2006).

Suelos	Fenantreno ⁺		Benzofurano ⁺⁺		Dibenzofurano ⁺⁺		Acridina ⁺⁺	
	K_d (l/kg)	K_{d-oc}	K_d (l/kg)	K_{d-oc}	K_d (l/kg)	K_{d-oc}	K_d (l/kg)	K_{d-oc}
P2	42 ± 3	7500	1.9 ± 0.0	339	14.5 ± 4.3	2589	26 ± 4	4643
Flakkebjerg	128 ± 4	10240	3.1 ± 0.0	248	44.5 ± 1.8	3560	96 ± 0	7680
Askov	176 ± 5	12662	3.3 ± 0.1	237	49.4 ± 4.3	3554	69 ± 1	4964
Borris	208 ± 3	12455	4.0 ± 0.3	240	71.5 ± 3.7	4281	105 ± 6	6287
IFA	91 ± 2	4946	2.6 ± 0.1	141	31.0 ± 5.1	1685	56 ± 4	3044
Kettering	188 ± 8	8995	3.5 ± 0.1	167	57.1 ± 4.9	2732	54 ± 2	2584
Norway	-	-	14.0 ± 0.5	255	316.3 ± 0.0	5761	169 ± 4	3078

⁺ obtenidos a $C_{ini} = 2 \mu\text{M}$ ⁺⁺ obtenidos a $C_{ini} = 10 \mu\text{M}$

IV.2.1.1.1. Influencia de las propiedades del compuesto orgánico en la adsorción.

A la vista de los resultados presentados en la Tabla IV.4 podemos decir que el orden de adsorción a los suelos se rige, fundamentalmente, por el número de anillos de la molécula, de tal manera que a mayor número de anillos, mayor adsorción y por la presencia o no de heteroátomo, siendo menor la adsorción de las moléculas que lo presentan. Como vemos en los valores de los coeficientes de adsorción, la molécula que se adsorbe en menor medida a todos los suelos es el benzofurano, que presenta un átomo de oxígeno y el menor número de anillos. Por el contrario, la molécula que presenta la mayor adsorción a los suelos es el fenantreno que tiene 3 anillos y no tiene ningún heteroátomo en su estructura. En una situación intermedia están acridina y dibenzofurano; ambas moléculas tienen el mismo número de anillos que el fenantreno pero la presencia de heteroátomos en sus estructuras hace que la adsorción sea manifiestamente menor. Del mismo modo, el mayor número de anillos de estas moléculas respecto al benzofurano hace que tengan una mayor adsorción.

El orden de los coeficientes de adsorción de los suelos para las moléculas de benzofurano y dibenzofurano es el mismo: Norway >> Borris > Kettering > Askov >

Flakkebjerg > IFA > P2. El coeficiente de correlación entre los K_d de ambas moléculas calculado sin el suelo Norway, para que pueda ser comparable con los resultados obtenidos para la molécula de fenantreno, es $r = 0.998$ ($P < 0.001$). Esto nos indica que benzofurano y dibenzofurano tienen el mismo comportamiento frente a los mismos suelos y que su adsorción a los suelos está influida por los mismos factores. Es lógico que tengan un comportamiento similar, ya que tienen una estructura muy parecida con la única diferencia de un anillo de benceno de más en la estructura del dibenzofurano. A su vez, este anillo de benceno hace que, a pesar de que el orden de adsorción a los suelos es el mismo, el dibenzofurano tenga unos valores de K_d mayores que el benzofurano.

El fenantreno presenta el mismo orden de valores de K_d para los diferentes suelos que el benzofurano y dibenzofurano. Los coeficientes de correlación calculados sin el suelo Norway son: para fenantreno y benzofurano $r = 0.980$ ($P < 0.001$) y para fenantreno y dibenzofurano $r = 0.976$ ($P < 0.001$). De aquí podemos deducir que los factores que afectan a la adsorción de benzofurano y dibenzofurano son similares a los que determinan la de fenantreno. Sin embargo, los valores de K_d nos indican que la adsorción es mucho mayor para el fenantreno seguido por el dibenzofurano y, por último, el benzofurano.

La acridina presenta un orden distinto en cuanto a capacidad de adsorción de los suelos: Norway >> Borris > Flakkebjerg > Askov > IFA \approx Kettering > P2. Los coeficientes de correlación calculados sin el suelo Norway son: para acridina y fenantreno $r = 0.671$ ($P = 0.14$), para acridina y benzofurano $r = 0.787$ ($P = 0.06$) y para acridina y dibenzofurano $r = 0.772$ ($P = 0.07$). Estos bajos coeficientes de correlación nos indican que en la adsorción de la acridina a los suelos intervienen factores diferentes de los que influyen en la adsorción de las demás moléculas. Es probable que el carácter básico de la acridina ($pK_a = 5.6$) juegue un papel importante en la adsorción de este compuesto a los suelos.

A la vista de los resultados obtenidos, la solubilidad en agua de fenantreno (1.2 mg/l), dibenzofurano (5 mg/l) y benzofurano (678 mg/l) podría explicar el comportamiento de estas moléculas frente a los diferentes suelos. El benzofurano es el compuesto con una mayor solubilidad en agua y el que menos se adsorbe. El fenantreno, por el contrario, es el que tiene una solubilidad en agua menor y el que más se adsorbe a los suelos, mientras que el dibenzofurano ocuparía una situación intermedia. Sin embargo, la solubilidad en agua de acridina (47 mg/l) no parece predecir el comportamiento de este compuesto. Por su mayor solubilidad, la acridina debería adsorberse menos que el dibenzofurano, pero este comportamiento sólo se da en los suelos Kettering y Norway, mientras que en la mayoría de los suelos estudiados el comportamiento es el contrario. Es probable, que los diferentes

factores que influyen en la adsorción de acridina, y que no afectan a la adsorción del resto de moléculas estudiadas en este trabajo, expliquen este comportamiento.

Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos por Bi *et al.* (2006) quienes, tras un estudio de la adsorción de diferentes hetero-PAHs, proponen que la adsorción de los compuestos heteroaromáticos con átomos de oxígeno y azufre está muy influenciada por el contenido en materia orgánica de los suelos y su adsorción está dominada por interacciones inespecíficas. Para los hetero-PAHs ionizables con átomos de nitrógeno en su estructura proponen que la adsorción tiene lugar, fundamentalmente, mediante interacciones específicas adsorbiéndose las formas protonadas y desprotonadas por mecanismos de adsorción diferentes.

IV.2.1.1.1.2. Influencia de las propiedades de los suelos en la adsorción.

Realizando un análisis de correlación entre las principales propiedades físico-químicas de los suelos y los coeficientes de adsorción de los distintos hetero-PAHs se obtuvieron los resultados que se exponen en la Tabla IV.5. En este cálculo no se emplearon los datos obtenidos con el suelo Norway debido a su alto contenido en materia orgánica y su bajo pH en comparación con el resto de suelos, ya que de haberlos utilizado los coeficientes de correlación hubieran sido muy altos y se habrían oscurecido las diferencias existentes entre los demás suelos.

Los valores obtenidos para los coeficientes de correlación de los cuatro compuestos indican una relación positiva entre sus K_d y el contenido en carbono orgánico de los suelos y encontramos una débil relación inversa entre los K_d y el contenido en arcilla. Para la capacidad de intercambio catiónico, CIC, y la superficie específica medida por adsorción de nitrógeno, $SE(N_2)$, también se da una relación inversa, probablemente porque estas propiedades del suelo están relacionadas con el contenido en arcilla. A la vista de estos resultados parece haber distintos factores que afectan a la adsorción de estos compuestos a los suelos, incluidos un efecto positivo del contenido en carbono orgánico y un efecto negativo del contenido en arcilla. No obstante, a la vista de los resultados de la Tabla IV.5, podemos decir que no parece posible relacionar los coeficientes de adsorción con una única propiedad de los suelos.

Tabla IV.5. Coeficientes de correlación obtenidos entre los valores de K_d de fenantreno, benzofurano, dibenzofurano y acridina y las principales propiedades físico-químicas de los suelos.

<i>Propiedades de los suelos</i>	<i>Coefficientes de correlación (r)</i>			
	Fenantreno	Benzofurano	Dibenzofurano	Acridina
Arena (%)	0.213	0.142	0.174	0.008
Limo (%)	0.064	0.173	0.131	0.419
Arcilla (%)	-0.545	-0.550	-0.556	-0.574
C orgánico (%)	0.666	0.668	0.655	0.335
CIC (cmol_c/kg)	-0.733	-0.728	-0.702	-0.678
pH	-0.838*	-0.763	-0.767	-0.466
SE(N₂)(m²/g)	-0.641	-0.680	-0.660	-0.834*

* P<0.05

El coeficiente de correlación más alto para fenantreno, benzofurano y dibenzofurano es el obtenido con el pH (Tabla IV.5). Al aumentar el pH, los grupos funcionales ácidos de la materia orgánica se cargan negativamente aumentando la polaridad de la misma y disminuyendo su afinidad por los compuestos no polares (Laor *et al.*, 1998).

Para valorar la importancia del contenido en materia orgánica en la adsorción de fenantreno, bezofurano, dibenzofurano y acridina a los suelos, se normalizaron los valores de K_d con el contenido en carbono orgánico de los suelos, calculándose las K_{d-oc} que se incluyen en la Tabla IV.4. Estos valores de K_{d-oc} ofrecen una variabilidad considerable por lo que podemos decir que el contenido en carbono orgánico por sí solo no puede explicar las diferentes capacidades de adsorción de los suelos.

Para fenantreno, benzofurano y dibenzofurano se observa, en general, que las mayores K_{d-oc} corresponden a los suelos con contenidos en arcilla más bajos y mayor contenido de carbono orgánico, lo que nos indica que, en general, se adsorben fuertemente a la materia orgánica y que los componentes minerales tienen un efecto negativo en la adsorción. No obstante, la adsorción de benzofurano al suelo P2 presenta la K_{d-oc} con el valor más elevado de todos, teniendo este suelo un alto contenido en arcilla. Este hecho podría explicarse porque, al tener el suelo P2 un contenido en materia orgánica menor al resto de suelos, es probable que los constituyentes inorgánicos, en particular su contenido en montmorillonita (Tabla IV.2), jueguen un papel más importante en la adsorción de benzofurano, que es una molécula que tiene una polaridad particularmente alta.

En el caso de la acridina vemos que los K_{d-oc} , al igual que para benzofurano, dibenzofurano y fenantreno, tienen una gran variabilidad, lo que nos indica que la adsorción de esta molécula a los suelos está influida por diferentes factores. Entre estos factores, el pH de la disolución del suelo debe jugar un papel muy importante por el carácter básico de la molécula.

En resumen, a la vista del bajo coeficiente de correlación encontrado entre el coeficiente de adsorción de estas sustancias a los suelos y el contenido en materia orgánica de los mismos, podemos decir que no se puede predecir la adsorción basándonos, únicamente, en el contenido en materia orgánica de los suelos (Pusino *et al.*, 1992). Este hecho se refleja en los K_{d-oc} , donde podemos observar una gran variabilidad en sus valores. Esto puede deberse a la heterogeneidad de la materia orgánica del suelo o a la influencia de algún otro factor en la adsorción (Karapanagioti *et al.*, 2000; Xing, 2001; Huang *et al.*, 2003). De hecho, autores como de Jonge *et al.* (2008) proponen que, en suelos donde la materia orgánica por sí misma no explica la adsorción del compuesto, la adsorción de PAHs a suelos puede ser predicha mediante el contenido de materia orgánica y un parámetro adicional de los mismos como, por ejemplo, el contenido en arcilla, la capacidad de intercambio catiónico o el pH. Para comprobar dicha afirmación realizamos una serie de correlaciones dobles combinando el contenido en materia orgánica de los suelos con el resto de sus propiedades. Los resultados se detallan en la Tabla IV.6.

Tabla IV.6. Correlaciones dobles obtenidas entre los valores de K_d de fenantreno, benzofurano, dibenzofurano y acridina y combinaciones del contenido de carbono orgánico con el resto de las principales propiedades de los suelos.

Propiedades	Coefficientes de correlación			
	Fenantreno	Benzofurano	Dibenzofurano	Acridina
CO-Arena	0.893	0.845	0.852	0.384
CO-Limo	0.746	0.701	0.701	0.440
CO-Arcilla	0.914	0.920	0.913	0.702
CO-CIC	0.850	0.850	0.823	0.686
CO-pH	0.982*	0.928	0.923	0.528
CO-SE(N₂)	0.905	0.933*	0.911	0.886

* P<0.05

CO: Carbono orgánico; CIC: Capacidad de Intercambio Catiónico; SE(N₂): Superficie Específica

Para fenantreno, benzofurano y dibenzofurano destacan las correlaciones dobles CO-Arcilla, CO-pH y CO-SE estando todas ellas por encima de 0.900. En el caso de fenantreno la correlación obtenida para CO-pH es de 0.982, que está muy por encima del

resto de valores obtenidos, para benzofurano destaca la correlación CO-SE con un valor de 0.933 y para dibenzofurano CO-pH con un valor de 0.923.

Los coeficientes para acridina son menores a los obtenidos para los otros tres compuestos, destacando CO-SE con un valor de 0.886. Este comportamiento indica que su interacción con el suelo es más compleja y deben de intervenir un número mayor de factores. Llama la atención que, teniendo acridina características ácido-bases, el coeficiente CO-pH sea tan bajo. Este hecho se puede explicar porque el rango de pH en que nos movemos (de 6.3 a 7.7, Tabla IV.1) está por encima del pK_a de la acridina y otros factores del suelo pueden tener una mayor importancia. Otra explicación podría ser que, como proponen dice Bi *et al.* (2006), acridina se adsorba preferentemente en su forma catiónica incluso cuando la fracción protonada presente es baja, por lo que el pH tiene una importancia relativa.

Tomando los coeficientes de correlación más altos obtenidos para cada compuesto podemos proponer las siguientes ecuaciones para predecir el valor de K_d :

- Para fenantreno: $K_d = 643.19 + 61.19 \cdot CO - 86.05 \cdot pH$

- Para benzofurano: $K_d = 2.63 + 0.87 \cdot CO - 0.07 \cdot SE$

- Para Dibenzofurano: $K_d = 184.2 + 19.48 \cdot CO - 24.30 \cdot pH$

- Para Acridina: $K_d = 86.14 + 16.27 \cdot CO - 3.41 \cdot SE$

IV.2.1.1.2. Isotermas de adsorción.

La Figura IV.4 muestra las isotermas de adsorción de benzofurano, dibenzofurano y acridina a los suelos, obtenidas en un rango de concentraciones iniciales 5-20 μM . En el caso de benzofurano, dada su elevada solubilidad en agua, se obtuvieron también las isotermas de adsorción a concentraciones más elevadas (50-200 μM) con suelos seleccionados.

En la Tabla IV.7 se muestran los coeficientes de regresión (R^2) obtenidos tras ajustar las isotermas de adsorción a la ecuación de Freundlich, mientras que los coeficientes de adsorción de Freundlich, K_f y n , resultantes del ajuste, se dan en la Tabla IV.8. En general los valores de R^2 reflejan un muy buen ajuste de las isotermas a la ecuación de Freundlich

con la única excepción del benzofurano en el suelo P2. En el resto de los casos, los valores de R^2 fueron superiores a 0.97.

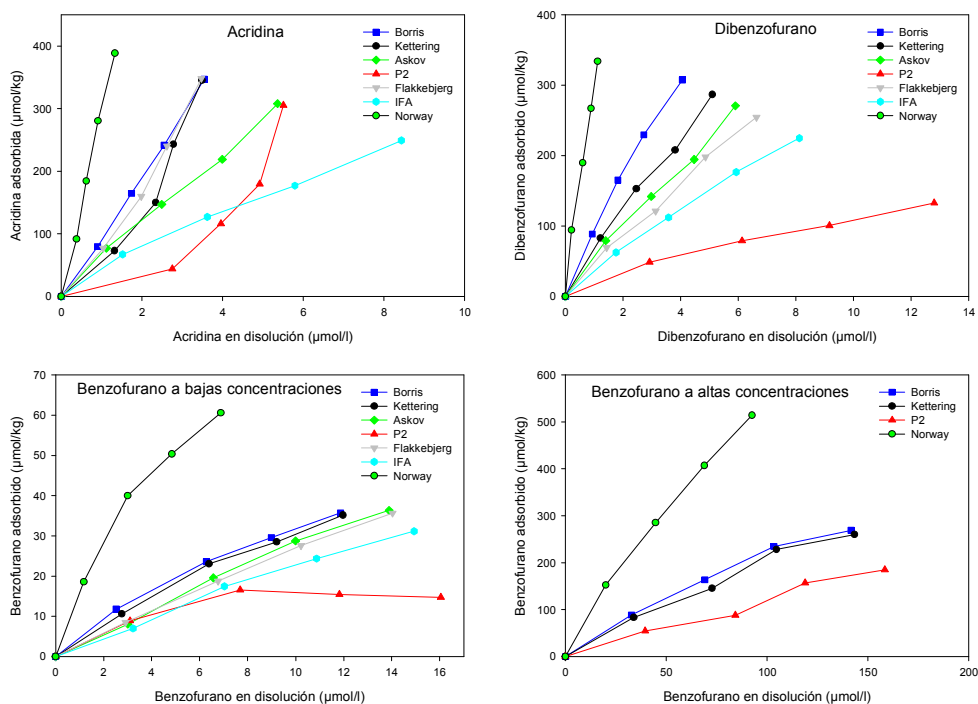


Figura IV.4. Isothermas de adsorción de acridina, dibenzofurano y benzofurano a los diferentes suelos.

Los valores de la constante n para benzofurano y dibenzofurano oscilan entre 0.33 y 0.99, lo que indica que las isothermas de adsorción son de tipo L ($n < 1$) según la clasificación de Giles *et al.* (1960). En el caso del dibenzofurano, los valores de n están dentro del rango de los obtenidos por Broholm *et al.* (1999), para la adsorción de este mismo compuesto en suelos arcillosos ($n = 0.58-0.86$). Este tipo de isothermas con valores de n inferiores a la unidad suele asociarse a la existencia de un número limitado de sitios de adsorción y a la ausencia de competencia entre las moléculas de soluto y las de disolvente por dichos sitios de adsorción. Por el contrario, muchas de las isothermas de acridina son de tipo S (Giles *et al.*, 1960), con valores de $n > 1$. El carácter S es especialmente marcado en el caso de los suelos P2 y Kettering. Las isothermas de tipo S a menudo reflejan una competencia entre el soluto y el disolvente por los sitios de adsorción o bien el establecimiento de interacciones intermoleculares entre las moléculas de soluto adsorbidas (Giles *et al.*, 1960). La forma de la isoterma y, en consecuencia, el mecanismo de adsorción, parece estar relacionada con la naturaleza del heteroátomo presente en las moléculas estudiadas.

Tabla IV.7. Coeficientes de regresión obtenidos tras el ajuste de las isotermas de adsorción de benzofurano, dibenzofurano y acridina a los suelos a la ecuación de Freundlich.

Suelos	Benzofurano Bajas Concentraciones R^2	Benzofurano Altas Concentraciones R^2	Dibenzofurano R^2	Acridina R^2
Borris	0.998	0.992	0.997	0.999
Kettering	0.993	0.983	0.996	0.978
Askov	0.992	-	0.993	0.996
P2	0.678	0.957	0.997	0.987
IFA	0.988	-	0.999	0.998
Flakkebjerg	0.999	-	0.991	0.997
Norway	0.984	0.999	0.994	0.987

En general, los valores de K_f reflejan que la afinidad de los compuestos orgánicos estudiados por los suelos sigue una tendencia similar a la observada a partir de los valores de K_d (Tabla IV.4). De hecho, salvo en algunos casos tales como la adsorción de acridina a los suelos P2 y Kettering, el orden de adsorción de los compuestos orgánicos a los diferentes suelos se mantiene para todo el rango de concentraciones iniciales evaluado. Conviene resaltar, no obstante, que la utilización de los valores de K_f para comparar la afinidad de los suelos por los compuestos orgánicos sólo es adecuada en el caso de que las isotermas presenten valores de n similares, pues de lo contrario, la afinidad relativa depende de la concentración de compuesto orgánico (Hance, 1967).

Tabla IV.8. Valores de K_f y n obtenidos del ajuste de las isothermas de adsorción a la ecuación de Freundlich.

Suelos	Benzofurano		Benzofurano	
	Bajas Concentraciones		Altas Concentraciones	
	K_f^+	n	K_f	n
Borris	6.2 (5.9-6.4) ⁺⁺	0.72±0.02 ⁺⁺⁺	6 (4.8-7.5)	0.78±0.05
Kettering	4.8 (4.3-5.2)	0.82±0.05	4.6 (3.3-6.4)	0.82±0.08
Askov	2.8 (2.4-3.2)	0.99±0.07	-	-
P2	6.8 (4.8-9.7)	0.33±0.16	1.8 (1-3.3)	0.91±0.14
IFA	2.3 (2-2.8)	0.98±0.08	-	-
Flakkebjerg	3.2 (3.1-3.3)	0.92±0.02	-	-
Norway	17.4 (16.1-18.9)	0.67±0.06	14.1 (13.7-14.4)	0.80±0.01

Suelos	Dibenzofurano		Acridina	
	K_f	n	K_f	n
Borris	96 (93-99)	0.85±0.03	90 (89-91)	1.07±0.01
Kettering	70 (67-73)	0.85±0.04	45 (38-52)	1.60±0.17
Askov	59 (55-62)	0.83±0.05	68 (65-72)	0.87±0.04
P2	24 (23-25)	0.67±0.02	3 (2-4)	2.66±0.22
IFA	39 (38-40)	0.84±0.01	48 (47-50)	0.76±0.02
Flakkebjerg	49 (45-53)	0.86±0.06	71 (69-75)	1.25±0.05
Norway	294 (284-304)	0.74±0.04	298 (282-314)	1.15±0.09

⁺ K_f expresada en $\mu\text{mol}^{1-n} \text{kg}^{-1}$; ⁺⁺ Rango de error estandar; ⁺⁺⁺ Valor \pm error estandar.

IV.2.1.1.3. Isothermas de desorción.

Las isothermas de desorción se obtuvieron realizando 3 ciclos de desorción sucesivos partiendo del punto de adsorción obtenido a la concentración de 20 μM para los 3 hetero-PAHs. En el caso del dibenzofurano se obtuvieron, también, partiendo de la concentración de 10 μM , para evaluar el efecto de la concentración inicial en la desorción. Se calculó el coeficiente de histéresis para cada una de las isothermas de desorción mediante la fórmula:

$$H = \frac{n_{\text{des}}}{n_{\text{ads}}}$$

donde n_{des} es el valor de la constante de Freundlich n para la isoterma de desorción y n_{ads} es el valor de n para la isoterma de adsorción (O'Connor *et al.*, 1980; Barriuso *et al.*, 1994).

Los resultados que hemos obtenido para la desorción del *dibenzofurano* en los cuatro suelos a ambas concentraciones indican una baja histeresis con $H \geq 0.53$ (Figura IV.5). Así pues, podemos deducir que los mecanismos de interacción entre la molécula y los suelos son débiles, pudiéndose dar con facilidad el paso de la molécula adsorbida a la disolución.

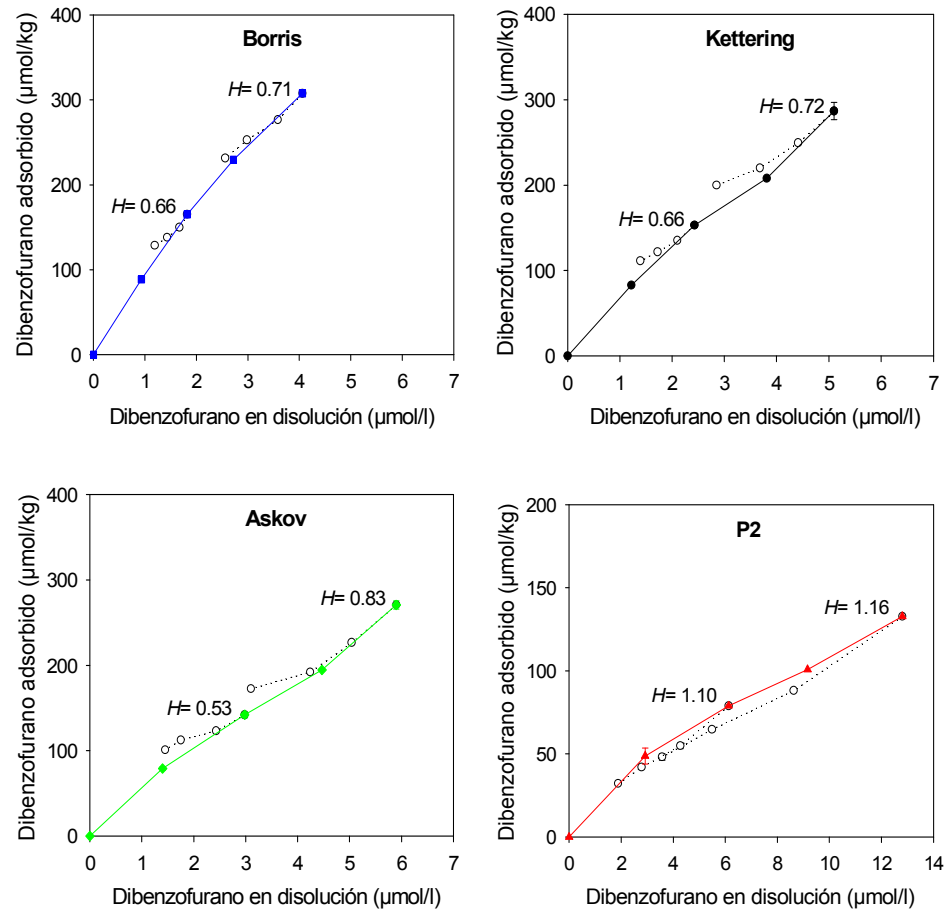


Figura IV.5. Isothermas de adsorción-desorción de dibenzofurano en los suelos Borris, Kettering, Askov y P2 y coeficientes de histéresis (H) resultantes.

Comparando los valores de H para las diferentes concentraciones en los cuatro suelos empleados podemos ver que los que corresponden a la concentración inicial de 10 μM son menores que los de concentración inicial 20 μM (Figura IV.5). Este mismo comportamiento ha sido observado con otros compuestos orgánicos en presencia de suelos y ha sido atribuido al carácter heterogéneo de los sitios de adsorción, de tal manera que los sitios de adsorción irreversibles, de alta energía, son ocupados primero (a bajas concentraciones) (Celis y Koskinen, 1999; Albarrán *et al.*, 2003).

Para los suelos Borris, Kettering y Askov la histéresis no se da de manera clara hasta el último paso de la desorción. En experimentos de incubación, que posteriormente discutiremos en esta memoria, observamos que en esos suelos puede producirse una degradación de dibenzofurano durante los 5 primeros días de incubación, especialmente a bajas concentraciones del compuesto orgánico. Por ello, es posible que la degradación del compuesto haya contribuido a la histéresis que se produce en el último paso de la desorción (Koskinen *et al.*, 1979).

En la Figura IV.6 están representados los resultados obtenidos en la desorción de *benzofurano* de los diferentes suelos. Los valores de los coeficientes de histéresis obtenidos van desde 0 hasta 0.51. Estos valores son menores que los obtenidos para el dibenzofurano, lo que indica que los mecanismos de interacción entre el benzofurano y los suelos son más fuertes que los de dibenzofurano. No obstante, conviene destacar que al ser el benzofurano un compuesto muy volátil es posible que parte de la irreversibilidad medida en estos experimentos se deba a pérdidas del compuesto a la fase gaseosa durante las medidas de desorción.

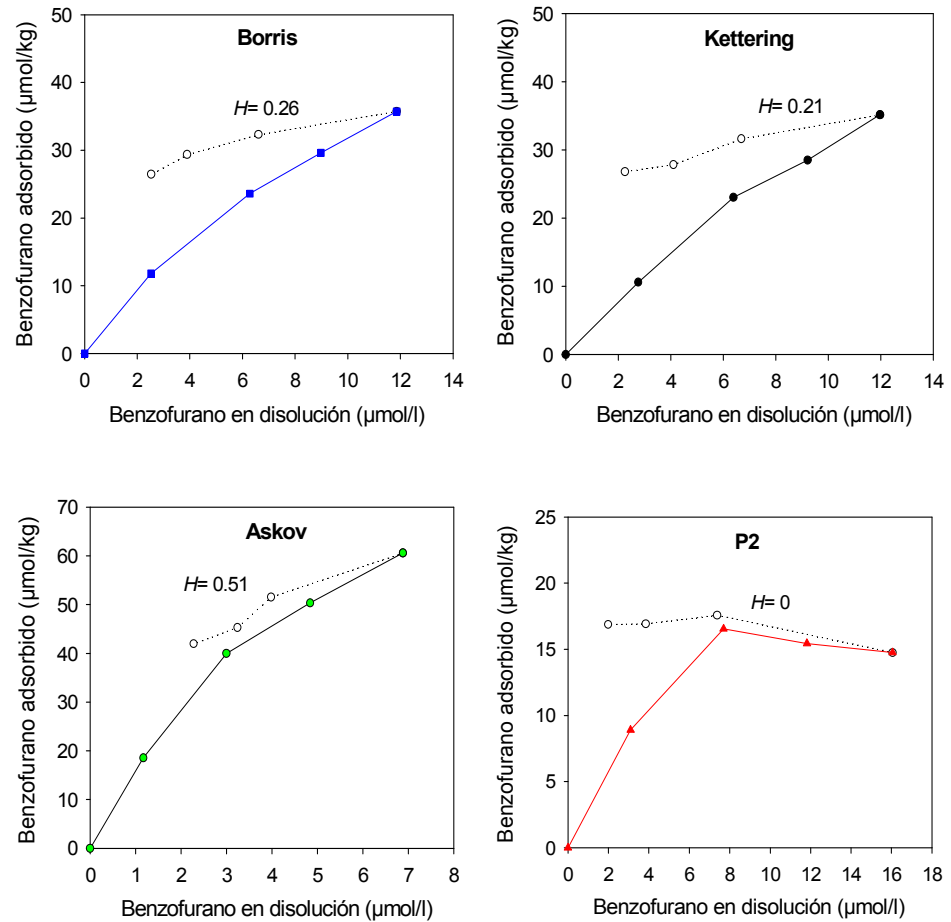


Figura IV.6. Isothermas de adsorción-desorción de benzofurano en los suelos Borris, Kettering, Askov y P2 y coeficientes de histéresis (H) resultantes.

Los resultados obtenidos en los experimentos de desorción de *acridina* están representados en la Figura IV.7. Los valores de los coeficientes de histéresis van desde 0.02 para el suelo P2 hasta 0.13 para el suelo Borris. Estos valores son muy bajos indicando con ello una gran irreversibilidad en la adsorción de este compuesto para todos los suelos. Estos valores están por debajo de los que presentan benzofurano y dibenzofurano, por lo que podemos decir que los mecanismos de interacción de la acridina con los suelos son mucho más fuertes. Estos resultados concuerdan con los encontrados por Bi *et al.* (2006) que sugerían que la unión de los O-PAHs a los suelos tiene lugar mediante interacciones no específicas tipo fuerzas de Van der Waals, mientras que la unión

de los N-PAHs protonables a los suelos ocurre, principalmente, mediante interacciones específicas.

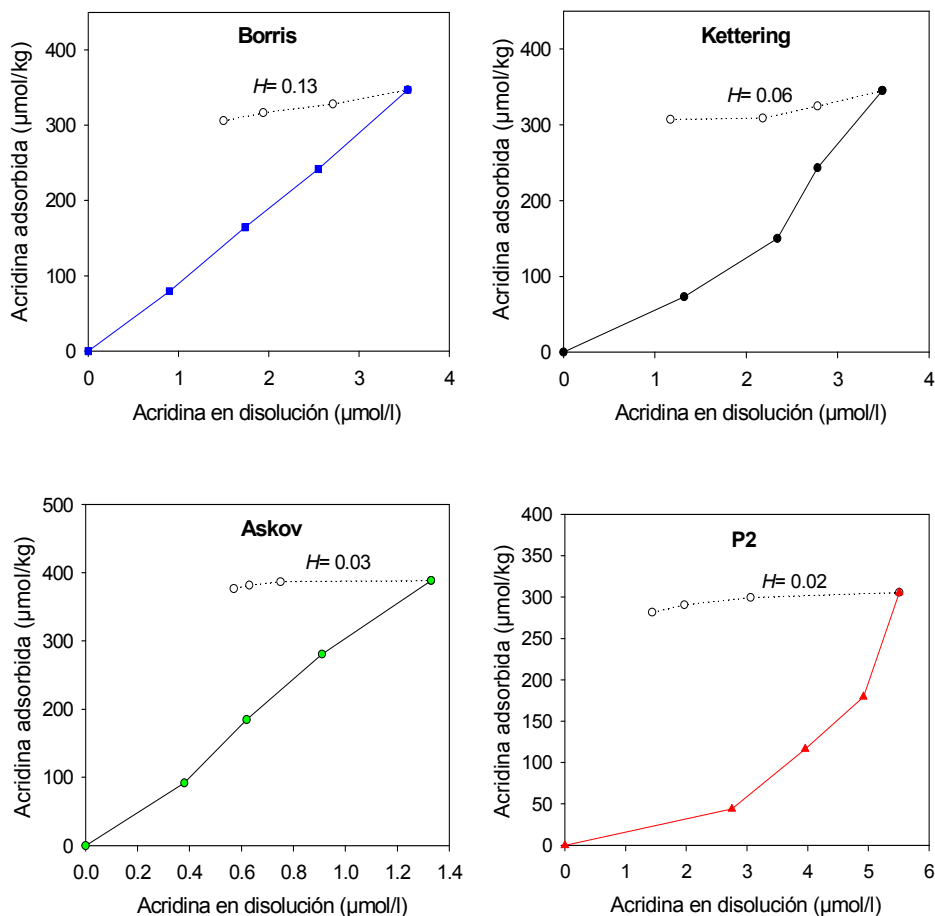


Figura IV.7. Isothermas de adsorción-desorción de acridina en los suelos Borrís, Kettering, Askov y P2 y coeficientes de histéresis (H) resultantes.

IV.2.1.2. Experimentos de adsorción a las fracciones arcilla.

Los resultados obtenidos en los experimentos de adsorción de benzofurano, dibenzofurano y acridina a las fracciones arcilla de los suelos Borrís, Kettering, Askov y P2 se muestran en la Tabla IV.9. Junto con estos datos también adjuntamos, a título comparativo, los datos de adsorción de fenantreno a las mismas fracciones arcilla, medidos bajo condiciones experimentales similares pero a una concentración inicial de 2 µM. Estos datos fueron extraídos de Celis *et al.* (2006).

Tabla IV.9. Coeficientes de adsorción a las fracciones arcilla de los suelos Borris, Kettering, Askov y P2 para fenantreno, benzofurano, dibenzofurano y acridina.

Fracciones arcillas	Fenantreno ⁺		Benzofurano ⁺⁺		Dibenzofurano ⁺⁺		Acridina ⁺⁺	
	K _d (l/kg)	K _{d-oc}	K _d (l/kg)	K _{d-oc}	K _d (l/kg)	K _{d-oc}	K _d (l/kg)	K _{d-oc}
Borris	5031 ± 53	21020	63.5 ± 2.9	265	1824 ± 55	7620	1839 ± 21	7680
Askov	1085 ± 14	17010	13.0 ± 0.3	204	316 ± 1	4950	3666 ± 10	57460
Kettering	346 ± 12	10480	6.3 ± 0.4	191	91 ± 1	2760	2886 ± 28	87450
P2	85 ± 8	8590	4.4 ± 1.4	444	35 ± 10	3540	1124 ± 10	113540

⁺ obtenidos a C_{ini} = 2 µM ⁺⁺ obtenidos a C_{ini} = 10 µM

Los K_d encontrados en la adsorción de los compuestos orgánicos a las fracciones arcilla resultaron ser más altos que los encontrados en su adsorción a los suelos (ver Tabla IV.4). Este hecho pone de manifiesto la importancia de la fracción arcilla en el proceso de adsorción de compuestos orgánicos.

El comportamiento en la adsorción a las fracciones arcilla de fenantreno, benzofurano y dibenzofurano es similar al que estos compuestos tenían en los suelos, siendo el orden de adsorción fenantreno > dibenzofurano > benzofurano para todas las fracciones arcilla. Los tres compuestos muestran una correlación muy alta entre la cantidad de carbono orgánico de las fracciones arcilla y su adsorción a las mismas (r=0.99, P<0.01). Esto nos indica la importancia de la materia orgánica en la adsorción de estas sustancias, sobre todo cuando el contenido en materia orgánica es elevado como ocurre en la mayoría de las fracciones arcilla empleadas (Tabla IV.2).

En el caso de la acridina, su comportamiento cambia considerablemente respecto al que tenía en los suelos. Para las fracciones arcilla de los suelos Kettering, Askov y P2 es el compuesto que se adsorbe en mayor medida, presentando valores de K_d mucho más altos comparados con el resto de compuestos. Para la fracción arcilla del suelo Borris el valor de K_d es alto pero de la misma magnitud que el dibenzofurano. El gran aumento en la adsorción de acridina a las fracciones arcilla comparado con su adsorción a los suelos se puede explicar por el pH de las fracciones arcilla. El pH, que para el caso de los suelos estaba comprendido entre 6.3 y 7.3 (Tabla IV.1), para las arcillas está entre 5.6 y 6.2 (Tabla IV.2), valores que están muy cercanos al pK_a de la acridina (5.6). Según Thomsen *et al.* (1999), los valores más altos de adsorción para muchas bases orgánicas tienen lugar en un rango de pH próximo a su pK_a.

Los mayores valores obtenidos para los K_{d-oc} de adsorción a las fracciones arcilla comparados con los obtenidos para los suelos podrían indicar que la materia orgánica que se acumula en la fracción arcilla de los suelos tiene un poder adsorbente mayor que la que existe globalmente en los suelos. Carmo *et al.* (2000) encontró diferencias similares en los valores de K_{d-oc} obtenidos para los suelos y sus fracciones arcilla con naftaleno y fenantreno y propusieron que estas diferencias eran debidas a la heterogeneidad entre la materia orgánica presente en las diferentes fracciones del suelo.

En la Tabla IV.10 mostramos el contenido en materia orgánica y componentes inorgánicos de las fracciones arcilla de los suelos.

Tabla IV.10. Contenido en materia orgánica y componentes inorgánicos de las fracciones arcilla de los suelos.

Fracciones arcilla	Materia Orgánica⁺ (%)	Componentes Inorgánicos⁺⁺ (%)
Borris	41.2 ± 0.2	58.8 ± 0.2
Askov	11.0 ± 0.1	89.0 ± 0.1
Kettering	5.7 ± 0.1	94.3 ± 0.1
P2	1.7 ± 0.1	98.3 ± 0.1

⁺ Calculado a partir del carbono orgánico mediante el factor de conversión 1.72 (Hamaker y Thompson, 1972); ⁺⁺ Calculado por diferencia.

Comparando los contenidos en materia orgánica y materia mineral de las fracciones arcilla (Tabla IV.10) con los valores de K_{d-oc} de fenantreno, benzofurano y dibenzofurano (Tabla IV.9), se observa que, en general, los valores de K_{d-oc} disminuyen al aumentar el contenido en materia mineral de las fracciones arcilla. La única excepción es la K_{d-oc} obtenida para benzofurano y dibenzofurano con la fracción arcilla del suelo P2, que a pesar de su elevado contenido en componentes minerales, es la que presenta un mayor K_{d-oc} (444 l/kg) para benzofurano y un K_{d-oc} para dibenzofurano (3540 l/kg) que está por encima de la fracción arcilla del suelo Kettering, con menor contenido en componentes minerales.

Los constituyentes inorgánicos pueden influir en la adsorción del compuesto orgánico de dos maneras, fundamentalmente: 1) contribuyendo a la adsorción, principalmente, cuando el contenido en minerales reactivos, como los filosilicatos expandibles, es elevado y cuando la molécula a adsorber tiene una polaridad relativamente alta (Karickhoff, 1984; Onken y Traina, 1997; Broholm *et al.*, 1999) y 2) influenciando las

propiedades adsorbentes de la materia orgánica como resultado de interacciones mutuas que afectarían a la accesibilidad y capacidad de adsorción de la misma (Pusino *et al.*, 1992; Njoroge *et al.*, 1998; Jones y Tiller, 1999). Así, el aumento en el contenido en componentes minerales parece provocar un efecto negativo en la adsorción de fenantreno, benzofurano y dibenzofurano a las fracciones arcilla de los suelos, posiblemente porque su contribución a la adsorción es pequeña y su asociación a la materia orgánica podría producir una disminución en la capacidad de ésta para adsorber compuestos orgánicos. Esta tendencia se invierte en la adsorción de benzofurano y dibenzofurano al suelo P2, donde el elevado contenido en minerales de la arcilla, en particular del tipo de la montmorillonita (Tabla IV.2), podría hacer que la fracción mineral contribuya de forma apreciable a la adsorción.

Los valores de K_{d-oc} obtenidos para acridina resultaron ser muy elevados, comparándolos con los calculados para suelos (Tabla IV.4). El suelo P2 es el que presenta un valor mayor seguido de Kettering, Askov y Borris. Podemos ver que existe una correlación positiva importante entre los componentes inorgánicos de la fracción arcilla del suelo y los K_{d-oc} de la acridina ($r=0.95$, $P=0.05$). Dentro de los componentes inorgánicos de la fracción arcilla es de esperar que los que jueguen un papel más importante en la adsorción sean los filosilicatos, que presentan cargas negativas donde se puede unir la acridina. La acridina, a los valores de pH de las fracciones arcilla de los suelos, se encuentra en gran medida protonada y, por tanto, cargada positivamente. La importancia de los filosilicatos en la adsorción de acridina se pone de manifiesto en los estudios de adsorción a los adsorbentes modelos que discutiremos a continuación.

También, es interesante destacar la relación que existe entre la superficie específica de las fracciones arcilla, medidas con nitrógeno, y los K_{d-oc} de la acridina ($r=0.92$, $P=0.08$) (Tablas IV.2 y IV.9). La superficie específica medida por adsorción de nitrógeno nos da una idea de la accesibilidad de los componentes inorgánicos.

IV.2.1.3. Experimentos de adsorción a adsorbentes modelos.

En la Tabla IV.11 se muestran los coeficientes de distribución y los valores de K_{d-oc} obtenidos en los experimentos de adsorción a adsorbentes modelos. Además, se adjuntan, a modo comparativo, los datos de adsorción de fenantreno a los mismos adsorbentes, extraídos de Celis *et al.* (2006).

Tabla IV.11. Coeficientes de distribución de benzofurano, dibenzofurano y acridina para adsorbentes modelos. Se incluyen también los valores obtenidos para fenantreno a título comparativo (Celis *et al.*, 2006).

	Fenantreno		Benzofurano		Dibenzofurano		Acridina	
	K_d (l/kg)	K_{d-oc}	K_d (l/kg)	K_{d-oc}	K_d (l/kg)	K_{d-oc}	K_d (l/kg)	K_{d-oc}
Adsorbentes individuales								
SW	2 ± 5	-	4.0 ± 0.6	-	14 ± 6	-	1238 ± 4	-
Ferrih	<1	-	2.1±0.3	-	4±4	-	31 ± 0	-
AH	5363 ± 234	10140	146.0 ± 0.1	276	2731 ± 224	5160	10926 [†]	20654
Asociaciones binarias								
SW-Ferrih₀	30 ± 4	-	-	-	114 ± 16	-	-	-
SW-Ferrih₈	12 ± 11	-	-	-	55 ± 8	-	-	-
SW-Ferrih₁₆	19 ± 6	-	-	-	56 ± 14	-	-	-
SW-AH₀	20 ± 4	-	-	-	19 ± 2	-	-	-
SW-AH₄	153 ± 4	6770	-	-	98 ± 9	4340	-	-
SW-AH₈	226 ± 1	6380	-	-	140 ± 15	3960	-	-
Ferrih-AH₀	<1	-	-	-	4 ± 4	-	-	-
Ferrih-AH₄	90 ± 9	4550	-	-	47 ± 8	2370	-	-
Ferrih-AH₈	158 ± 8	4320	-	-	88 ± 4	2400	-	-
Asociaciones ternarias								
SW-Ferrih-AH₀	36 ± 8	-	4.1 ± 0.3	-	64 ± 14	-	>10000	-
SW-Ferrih-AH₄	234 ± 9	15190	8.9 ± 0.1	578	91 ± 7	5910	>10000	>10000
SW-Ferrih-AH₈	395 ± 12	13440	10.9 ± 0.5	371	172 ± 35	5850	>10000	>10000

[†]: Se obtuvo únicamente por simplificado.

Debido a la similitud en el comportamiento de benzofurano y dibenzofurano y para una mejor comprensión del mismo, se discutirán juntos en un apartado, explicándose en otro apartado diferente el comportamiento de acridina.

IV.2.1.3.1. Comportamiento de benzofurano y dibenzofurano frente a adsorbentes modelos.

Influencia de la materia orgánica:

El comportamiento de benzofurano y dibenzofurano es similar frente a los adsorbentes modelos y, al igual que en el caso de fenantreno, está muy influenciado por la cantidad ácido húmico (AH) del adsorbente.

Si nos fijamos en los adsorbentes individuales (SW, Ferrih y AH), podemos ver que el AH es el que tiene una mayor capacidad de adsorción, seguido, con varios órdenes de magnitud menor, por la montmorillonita de Wyoming (SW) y, en último lugar, la ferrihidrita (Ferrih). La afinidad de fenantreno, benzofurano y dibenzofurano por la materia orgánica es mucho mayor que la que tienen por los componentes minerales. Estos resultados concuerdan con los encontrados por Green y Karickhoff (1990) donde se expone que, en general, moléculas orgánicas relativamente grandes ($>C_{10}$) no polares tienen una afinidad 100 veces mayor por el carbono orgánico del suelo que por los minerales del suelo.

La adsorción de estas moléculas a los adsorbentes binarios y ternarios viene a confirmar su afinidad por los adsorbentes simples: al aumentar el porcentaje de AH del adsorbente aumenta el valor de K_d . Se hace una vez más patente la importancia de la materia orgánica en la adsorción de estos compuestos, al igual que se observó con las fracciones arcilla de los suelos.

Para los adsorbentes modelos que tienen en su composición AH vemos que el fenantreno es el compuesto que se adsorbe en mayor proporción, seguido del dibenzofurano y, por último, el benzofurano. Este mismo comportamiento es el que pudimos observar en la adsorción a suelos y a sus fracciones arcilla.

Los valores de K_{d-oc} obtenidos con los adsorbentes binarios para fenantreno y dibenzofurano son menores que los hallados para el adsorbente modelo simple AH (Tabla IV.11), por lo que parece que hay una reducción de las propiedades de adsorción del AH al asociarse con los componentes minerales. En estudios previos se ha visto que la asociación del AH con Ferrih produce un bloqueo de los grupos funcionales del AH responsables de la adsorción de metales pesados (Cruz-Guzmán *et al.*, 2003). Es posible que, de manera similar, se hubiese producido un bloqueo de los sitios de adsorción (regiones hidrofóbicas) de fenantreno y dibenzofurano. Esta misma tendencia fue

observada en la adsorción de benzofurano y dibenzofurano a las fracciones arcilla de los suelos (Tabla IV.9). Autores como Pusino *et al.* (1992) o Jones y Tiller (1999), afirman que los componentes inorgánicos del suelo juegan un papel muy importante en la adsorción de compuestos a la materia orgánica del suelo, de tal modo, que cuando la materia orgánica está unida a constituyentes inorgánicos es menos accesible. En el caso de las K_{d-oc} obtenidas en los adsorbentes ternarios para fenantreno, benzofurano y dibenzofurano ocurre lo contrario, es decir, se incrementa el valor respecto al que obtuvimos para AH. Probablemente, el bloqueo de los sitios de adsorción del AH se ve oscurecido por la alta adsorción que presentan los blancos SW-Ferrih-AH₀ (Tabla IV.11).

Influencia de los componentes minerales:

Para los componentes minerales individuales (SW, Ferrih) benzofurano y dibenzofurano se adsorben más que fenantreno, justo lo contrario que sucedía en la adsorción a la materia orgánica. Esto puede ser explicado por la mayor polaridad que tienen estos hetero-PAHs debido a la presencia del átomo de oxígeno (Chiou y Kile, 1994; Xing, 2001). Esta misma tendencia puede observarse en los adsorbentes modelos binarios compuestos únicamente por componentes minerales (SW-Ferrih₀, SW-Ferrih₄, SW-Ferrih₈), donde las K_d obtenidas para dibenzofurano son mayores que las obtenidas para fenantreno.

Para hacer una aproximación al papel relativo que juegan los componentes minerales en las asociaciones con AH se han comparado los K_d de estas asociaciones con los de sus respectivos blancos mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Contribución mineral (\%)} = \frac{K_d \text{ blanco}}{K_d \text{ asociación.}} \times 100$$

Los resultados obtenidos están en la Tabla IV.12.

En estos resultados se ve un mayor protagonismo de los componentes minerales en las adsorciones de benzofurano y dibenzofurano que en la de fenantreno. Además, se puede apreciar una mayor contribución de los componentes minerales en aquellos que está implicada la SW. Estos resultados explicarían los obtenidos en las adsorciones a las fracciones arcilla de los suelos, donde se encontró una K_{d-oc} más alta de lo esperado en la adsorción de benzofurano a la fracción arcilla del suelo P2 (Tabla IV.9).

Tabla IV.12. Contribución del componente mineral en la adsorción de fenantreno, benzofurano y dibenzofurano a las asociaciones modelos con AH.

	<i>Fenantreno</i>	<i>Benzofurano</i>	<i>Dibenzofurano</i>
	<i>Contribución del componente mineral a la adsorción (%)</i>		
SW-AH₄	13.1	-	19.4
SW-AH₈	8.8	-	13.6
Ferrih-AH₄	1.1	-	8.5
Ferrih-AH₈	0.6	-	4.5
SW-Ferrih-AH₄	15.4	46.1	70.3
SW-Ferrih-AH₈	9.1	37.6	37.2

IV.2.1.3.2. Comportamiento de acridina frente a adsorbentes modelos.

Los resultados de adsorción de acridina a los adsorbentes modelos (Tabla IV.11) muestran los K_d más altos de los hetero-PAHs estudiados en este trabajo. Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos en las adsorciones a las fracciones arcilla donde, para las 4 fracciones arcilla estudiadas, la acridina fue el compuesto que se adsorbió más (Tabla IV.9).

En el caso de la adsorción de acridina a los adsorbentes modelos simples destaca especialmente la adsorción a AH, seguida de la adsorción a SW y, con varios ordenes de magnitud menos, la adsorción a Ferrih. La adsorción tan alta a AH es posible que esté relacionada tanto con la afinidad del compuesto por la materia orgánica como con el pH tan bajo que presenta este adsorbente modelo (pH=2.3). A dicho pH la acridina se encuentra protonada y presenta una afinidad muy alta por los grupos carboxilos y fenólicos del ácido húmico.

Para los adsorbentes modelos ternarios encontramos K_d muy altas, probablemente porque el pH que presentan es muy cercano al pK_a de acridina. Como se ha mencionado anteriormente, hay autores que afirman que a niveles de pH próximos al pK_a es donde se da la mayor adsorción de este tipo de moléculas. Cabe destacar la importante adsorción al blanco SW-Ferrih-AH₀, compuesto únicamente por componentes inorgánicos.

Los K_{d-oc} de acridina presentan los valores más altos de todos los hetero-PAHs estudiados. Los K_{d-oc} de los adsorbentes ternarios presentan un valor mucho mayor que el correspondiente a AH. Esto nos indica que existen otros factores, aparte de la materia orgánica, que influyen en la adsorción de acridina, y que podrían jugar un papel muy

importante. Los componentes minerales, de gran importancia como hemos visto en la adsorción a adsorbentes modelos y en la adsorción a las fracciones arcilla de los suelos, y el pH podrían tener una gran influencia.

IV.2.1.4. Consideraciones generales sobre los resultados de los experimentos de adsorción y desorción llevados a cabo con hidrocarburos aromáticos policíclicos sustituidos.

Los resultados obtenidos en los experimentos de adsorción-desorción de benzofurano, dibenzofurano y acridina a los suelos, sus fracciones arcilla y adsorbentes modelos revelan que la adsorción de estos compuestos orgánicos viene determinada por el número de anillos de la molécula y por la presencia y naturaleza del heteroátomo en la misma. La comparación de los coeficientes de adsorción de benzofurano y dibenzofurano con datos publicados para fenantreno (Celis *et al.*, 2006), sugiere que los factores que determinan la adsorción de estas tres moléculas en los suelos estudiados son similares y que la adsorción está inversamente relacionada con la solubilidad de las mismas. Por el contrario, el carácter ionizable de la acridina le confiere características adsorptivas diferentes, presentando una adsorción más elevada a la que podría esperarse a partir de su solubilidad en agua y siendo diferentes los factores que determinan su adsorción en los suelos.

La materia orgánica parece ser el componente que más contribuye a la adsorción de benzofurano y dibenzofurano por los suelos estudiados, tal y como ha sido observado previamente para fenantreno y otros hidrocarburos aromáticos policíclicos no sustituidos (Fall *et al.*, 2003; Celis *et al.*, 2006). Este hecho queda patente no solo por la elevada adsorción de benzofurano y dibenzofurano al suelo Norway, que destaca por su elevado contenido en materia orgánica, sino también por los resultados de adsorción a las fracciones arcilla de los suelos y a los adsorbentes modelos. No obstante, cuando el contenido de carbono orgánico es bajo o moderado (<2%), como ocurre para la mayoría de los suelos utilizados en este trabajo, las correlaciones simples adsorción-contenido en carbono orgánico resultan ser débiles y la influencia de otros factores en la adsorción se hace más evidente. Entre estos otros factores destacan, además de la posible heterogeneidad de la materia orgánica de suelos con diferentes orígenes (Karapanagiati *et al.*, 2000; Ahmad *et al.*, 2001; Huang *et al.*, 2003), el pH y el contenido en arcilla, que parecen tener un efecto negativo en la adsorción. En el caso del pH, su efecto negativo puede atribuirse a que un aumento del pH aumenta la ionización de los grupos ácidos de la materia orgánica del suelo (grupos carboxílicos y fenólicos), lo que reduce el carácter

hidrofóbico de ésta y por consiguiente su afinidad por compuestos orgánicos neutros (Laor *et al.*, 1998). En el caso del contenido en arcilla, es probable que su elevada reactividad frente a la materia orgánica pudiera reducir la capacidad adsorbente de ésta como resultado de interacciones mutuas que afecten a la accesibilidad de regiones con afinidad por los compuestos orgánicos (Pusino *et al.*, 1992; Celis *et al.*, 1997; Njoroge *et al.*, 1998; Jones y Tiller, 1999). No obstante, conviene resaltar que el papel de la arcilla puede invertirse cuando el contenido en determinados componentes minerales, como las esmectitas, es elevado y la molécula a adsorber tiene una alta polaridad. Tal es el caso del suelo P2 en el que, por la escasez de materia orgánica y abundancia de minerales esmectíticos, estos últimos parecen contribuir significativamente a la adsorción de benzofurano y, en menor medida, de dibenzofurano.

En un intento de describir el efecto de la asociación de la materia orgánica a la materia mineral en la capacidad adsorbente de la materia orgánica de los suelos, en la Figura IV.8 se han representado los valores de K_{d-oc} para la adsorción de dibenzofurano a los diferentes suelos utilizados en este trabajo frente a dos posibles indicadores del grado de asociación: i) la relación contenido en carbono orgánico/contenido en arcilla (C.O./arcilla) y ii) el aumento en la superficie específica medida por adsorción de nitrógeno de los suelos tras la eliminación de la materia orgánica por calcinación a 350°C [$\Delta SE(N_2)$]. El primero de estos indicadores es el más simple y asume un mayor grado de asociación en suelos para los que la relación C.O./arcilla es más baja. El segundo indicador asume que el aumento de la $SE(N_2)$ de un suelo tras la eliminación de la materia orgánica por calcinación corresponde a superficies minerales que se encontraban originalmente recubiertas por la materia orgánica (Mayer y Xing, 2001). Dicho aumento en superficie, normalizado al contenido en carbono orgánico [$\Delta SE(N_2)/C.O.$], sería una medida relativa de la fracción de materia orgánica asociada a la materia mineral. Como puede verse en la Figura IV.8, excepto para el suelo IFA, se encontró una buena correlación negativa entre la afinidad de la materia orgánica de los diferentes suelos (expresados como K_{d-oc}) por el compuesto dibenzofurano y ambos indicadores del grado de asociación de la materia orgánica a la materia mineral. El suelo IFA presenta un valor de K_{d-oc} menor de lo esperado, lo que podría deberse a su elevado pH y/o alto contenido en carbonatos (Tabla IV.1), ya que se sabe que el poder adsorbente de la materia orgánica para compuestos orgánicos disminuye al aumentar el pH y que el carbonato de los suelos se une de manera importante a la materia orgánica, pudiendo de este modo reducir su capacidad de adsorción.

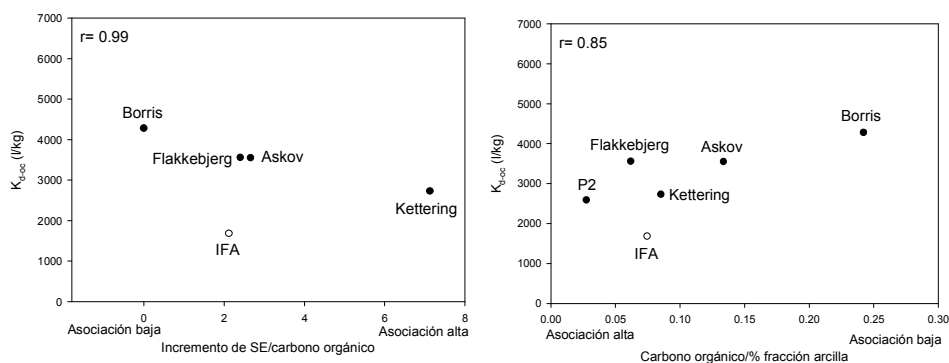


Figura IV.8. K_{d-oc} obtenidos en la adsorción de dibenzofurano a los suelos frente a dos posibles indicadores del grado de asociación de la materia orgánica.

En la adsorción de acridina a los suelos estudiados parecen intervenir factores diferentes a los que determinan la adsorción de benzofurano y dibenzofurano. De nuevo es el suelo Norway, con un alto contenido en materia orgánica y bajo pH, el que presenta una mayor afinidad por la acridina, pero los coeficientes de adsorción al resto de los suelos no muestran correlación con el contenido de carbono orgánico ni tampoco con los coeficientes medidos para benzofurano y dibenzofurano. Los resultados de adsorción de acridina a las fracciones arcilla y a los adsorbentes modelos sugieren que los minerales de la arcilla, en particular aquellos con capacidad de intercambio catiónico como los filosilicatos, pueden contribuir significativamente a la adsorción de este compuesto, especialmente cuando el pH se aproxima a su pKa ($pK_a = 5.6$), ya que el predominio de la forma catiónica de acridina aumenta la afinidad del compuesto por las superficies con carga negativa de los minerales de la arcilla. La diferente forma de la isoterma de adsorción, dependiendo del tipo de suelo, complica todavía más el comportamiento de la acridina en los suelos, haciendo que la adsorción dependa en gran medida de la concentración.

Benzofurano, dibenzofurano y acridina también muestran comportamientos diferentes en su desorción de suelos. La adsorción de acridina es esencialmente irreversible, lo que está de acuerdo con mecanismos de adsorción específicos y/o a través de fuerzas electrostáticas (cambio catiónico) tanto la materia orgánica del suelo como con los componentes minerales (Bi *et al.*, 2006). La adsorción de dibenzofurano es esencialmente reversible, lo que apunta a interacciones no específicas con la materia orgánica del suelo. Benzofurano presenta un comportamiento intermedio, aunque la elevada volatilidad de este compuesto hace complicada la interpretación de los datos de desorción.

IV.2.2. Estudios de incubación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos sustituidos en los suelos.

Se realizaron estudios de incubación de benzofurano, dibenzofurano y acridina en los suelos Borris, Kettering, Askov y P2 a dosis de 100 mg/kg. Estos estudios se llevaron a cabo a temperatura ambiente y a 4° C para evaluar la influencia de la temperatura en la persistencia de los compuestos. Los resultados obtenidos se expresan en la Figura IV.9 como porcentaje de compuesto extraído de los suelos tras diferentes tiempos de incubación.

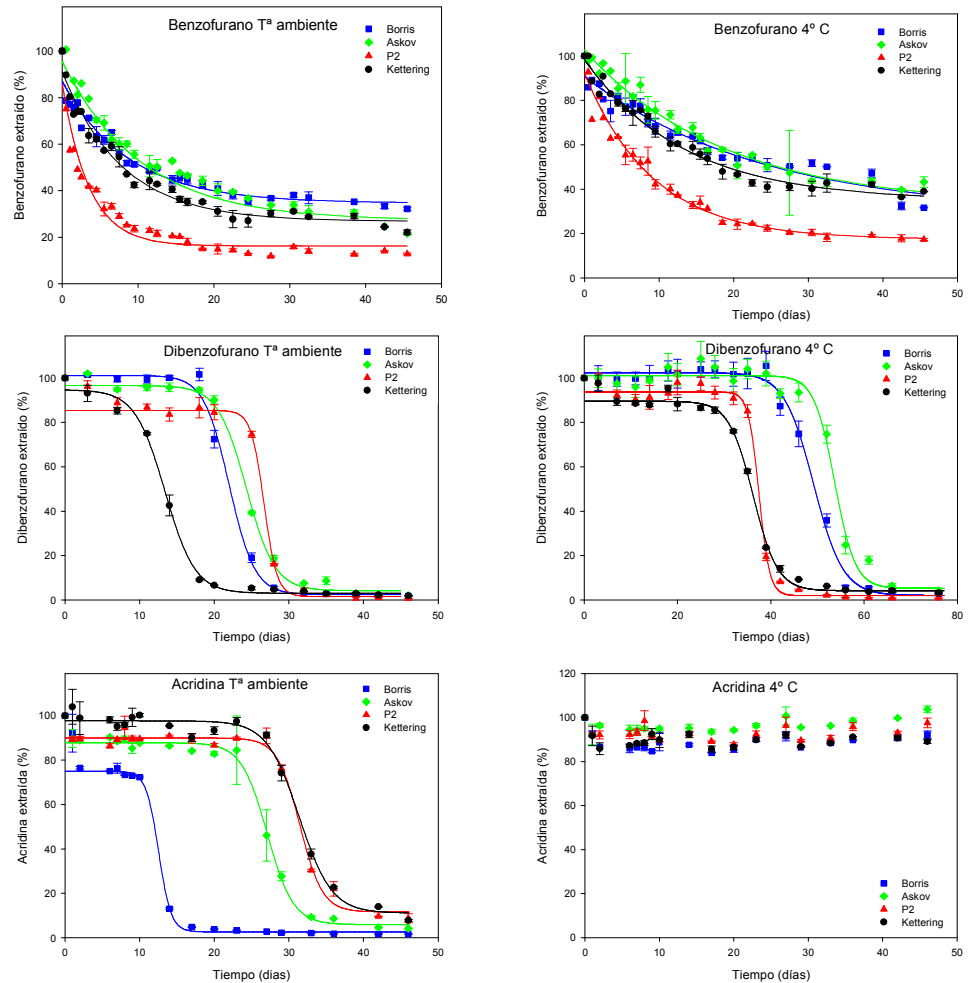


Figura IV.9. Curvas de disipación de benzofurano, dibenzofurano y acridina en los suelos Borris, Askov, P2 y Kettering a temperatura ambiente y 4° C. Los símbolos corresponden a los datos experimentales, mientras que las curvas corresponden a los ajustes de los mismos a las ecuaciones Ec.1 y Ec.2.

A la vista de los resultados obtenidos podemos ver que existen dos comportamientos diferentes, pues las curvas de disipación de benzofurano presentan una caída exponencial, mientras que las curvas de dibenzofurano y acridina tienen una forma sigmoïdal. La caída exponencial observada en las curvas de disipación de benzofurano se asemeja a cinéticas de primer orden en las que la velocidad de disipación es proporcional a la concentración de compuesto existente en el suelo, si bien, para todos los suelos, parece existir una cantidad residual de benzofurano resistente a la disipación y que persiste a tiempos prolongados de incubación. Publicaciones recientes han mostrado que una cinética simple de primer orden puede no explicar satisfactoriamente la disipación de un compuesto en sistemas naturales como los suelos ya que, además de la concentración existente en cada momento del mismo, existen otros factores que pueden influir en la disipación (McDonald, 2006; Banerjee, *et al.*, 2008). Por ello, los datos obtenidos en la disipación de benzofurano se ajustaron a una caída exponencial con tres parámetros (datos ajustados con SIGMAPLOT 8.0):

$$C = C_0 + a e^{-bt} \quad \text{[Ec.1]}$$

donde C es el porcentaje de benzofurano extraído tras un tiempo de incubación t (días) y C_0 , a y b son constantes que definen la curva de disipación. Los valores de las constantes cinéticas obtenidos tras el ajuste se resumen en la Tabla IV.13, comprobándose en la Figura IV.9 un buen ajuste de los datos experimentales al modelo cinético utilizado.

Tabla IV.13. Constantes cinéticas obtenidas tras ajustar los datos de disipación de benzofurano a la ecuación Ec.1.

BENZOFURANO				
Tª ambiente				
	Borris	Kettering	Askov	P2
C₀	34.69 ± 1.72	26.81 ± 1.45	27.18 ± 2.28	16.21 ± 1.36
a	52.18 ± 2.25	64.31 ± 2.06	68.30 ± 2.46	69.63 ± 3.52
b	0.12 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.29 ± 0.03
R²	0.956	0.975	0.979	0.950
4º C				
	Borris	Kettering	Askov	P2
C₀	28.48 ± 6.67	34.86 ± 2.10	32.56 ± 3.43	17.38 ± 1.85
A	62.29 ± 5.99	63.51 ± 2.11	70.06 ± 3.08	74.80 ± 2.41
B	0.04 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.11 ± 0.01
R²	0.946	0.978	0.979	0.976

Al contrario que las curvas de disipación sigmoidales, las curvas encontradas para el benzofurano no son típicas de compuestos utilizados como sustrato de crecimiento por microorganismos (Kearney *et al.*, 1997) por lo que es posible que el benzofurano haya sido cometabolizado por los microorganismos del suelo. Sin embargo, conviene resaltar que dada la elevada presión de vapor del benzofurano (14 mm Hg a 25° C), la volatilización de este compuesto ha podido contribuir significativamente a su disipación durante los experimentos de incubación. De hecho, la cantidad de benzofurano extraída a tiempo cero, es decir, tras el periodo de seis horas utilizado para evaporar el disolvente orgánico en el que se aplicó el compuesto, fue tan solo el 30% de la aplicada. Cabe pensar que en tan poco tiempo los fenómenos de degradación apenas actuaron y que la mayor parte del compuesto se perdió por volatilización.

Hacia el final del experimento la velocidad de disipación del compuesto va decreciendo quedando una cantidad residual del mismo que se corresponde con la constante de disipación C_0 (Tabla IV.13). Es probable que este compuesto restante esté fuertemente retenido por las estructuras del suelo y, por ello, esté menos disponible para evaporarse o degradarse.

La forma sigmoidal de las curvas de disipación encontradas para dibenzofurano y acridina son típicas de compuestos usados como sustratos de crecimiento por microorganismos. En ellas, tras una primera fase de latencia donde la cantidad de compuesto se mantiene invariable, la cantidad de compuesto decae rápidamente hasta quedar una cantidad residual del mismo que puede estar fuertemente adsorbida a las partículas de suelo o en lugares de difícil accesibilidad y, por tanto, poco disponible para su degradación por parte de los microorganismos (McDonald, 2006; Stintzing *et al.*, 2006).

La ecuación que mejor describe el comportamiento de acridina y dibenzofurano es de tipo sigmoidal con 4 constantes cinéticas de degradación (ajuste de la ecuación realizado con SIGMAPLOT 8.0):

$$C = C_0 + \frac{a}{1 + e^{-\left(\frac{t-t_0}{b}\right)}} \quad \text{[Ec.2]}$$

donde C es el porcentaje de acridina y dibenzofurano extraído a tiempo t (días) y C_0 , t_0 , a y b son constantes que definen la curva de disipación. La cantidad residual de compuesto resistente a la degradación se corresponde con la constante de disipación C_0 .

Los valores de las constantes cinéticas obtenidos tras el ajuste se dan en las Tablas IV.14 y IV.15, comprobándose en la Figura IV.9 un buen ajuste de los datos experimentales al modelo cinético.

Tabla IV.14. Constantes cinéticas obtenidas tras ajustar los datos de disipación de dibenzofurano a la ecuación Ec.2.

DIBENZOFURANO				
Tª ambiente				
	Borris	Kettering	Askov	P2
a	98.73 ± 2.07	91.67 ± 2.13	92.40 ± 1.91	83.87 ± 0.93
b	-1.70 ± 0.18	-2.01 ± 0.21	-1.91 ± 0.20	-0.87 ± 0.05
t₀	22.00 ± 0.30	13.40 ± 0.23	24.29 ± 0.24	26.66 ± 0.09
C₀	2.46 ± 1.34	3.04 ± 0.95	4.21 ± 1.10	1.55 ± 0.59
R²	0.996	0.996	0.997	0.999
4º C				
	Borris	Kettering	Askov	P2
a	100.40 ± 2.13	85.40 ± 1.37	95.81 ± 2.99	91.79 ± 1.34
b	-3.15 ± 0.30	-2.60 ± 0.19	-2.20 ± 0.42	-1.14 ± 0.12
t₀	49.17 ± 0.41	36.24 ± 0.24	53.69 ± 0.45	37.43 ± 0.19
C₀	2.06 ± 1.64	4.17 ± 0.84	5.27 ± 2.46	1.96 ± 0.88
R²	0.995	0.997	0.989	0.997

Tabla IV.15. Constantes cinéticas obtenidas tras ajustar los datos de disipación de acridina a la ecuación Ec.2.

ACRIDINA				
Tª ambiente				
	Borris	Kettering	Askov	P2
a	72.34 ± 0.77	86.57 ± 2.86	81.92 ± 1.58	78.36 ± 2.31
b	-0.83 ± 0.08	-2.17 ± 0.26	-1.74 ± 0.19	-1.51 ± 0.19
t₀	12.54 ± 0.15	31.38 ± 0.35	27.10 ± 0.18	31.46 ± 0.29
C₀	2.62 ± 0.38	11.14 ± 2.59	5.92 ± 1.32	11.64 ± 2.06
R²	0.999	0.990	0.996	0.992
4º C				
	Borris	Kettering	Askov	P2
a	- ⁺	-	-	-
b	-	-	-	-
t₀	-	-	-	-
C₀	-	-	-	-
R²	-	-	-	-

⁺: Durante el tiempo que duró el experimento de disipación, la cantidad de acridina en el suelo no varió significativamente.

En los primeros días de los experimentos de disipación, en algunos suelos se observó una rápida bajada de los porcentajes extraídos de dibenzofurano y acridina respecto a los medidos inicialmente (Figura IV.9). Es presumible que esta bajada se deba a fenómenos de adsorción, ya que los fenómenos de degradación suelen necesitar más tiempo para actuar. Por otra parte, las tomas de muestra a tiempo cero para dibenzofurano y acridina revelaron concentraciones similares a las añadidas, al contrario de lo que sucedía en el caso del benzofurano, lo que indica una baja incidencia de los fenómenos de volatilización.

Partiendo de las ecuaciones de las curvas de disipación que hemos obtenido para benzofurano, dibenzofurano y acridina a temperatura ambiente y 4° C, se ha calculado el tiempo que tardaría el compuesto disipado en alcanzar el 50% de la concentración inicial (TD₅₀). Los resultados se presentan en la Tabla IV.16.

Tabla IV.16. TD₅₀ calculados a partir de las ecuaciones de disipación obtenidas para cada compuesto en los diferentes suelos a temperatura ambiente y 4° C.

	<i>Benzofurano</i>		<i>Dibenzofurano</i>		<i>Acridina</i>	
	<i>T^a amb</i>	<i>4° C</i>	<i>T^a amb</i>	<i>4° C</i>	<i>T^a amb</i>	<i>4° C</i>
Borris	10.6	25.4	22.1	49.5	12.0	- [†]
Kettering	8.0	19.0	13.3	35.9	31.8	-
Askov	11.3	25.9	24.3	54.0	26.8	-
P2	2.5	7.6	26.4	37.3	31.5	-

[†]: Durante el tiempo que duró el experimento de disipación, la cantidad de acridina en el suelo no varió significativamente.

A la vista de los resultados (Tabla IV.16, Figura IV.9) podemos decir que existe una relación directa entre la disipación y la temperatura. Al bajar la temperatura disminuye la actividad microbiana y la volatilización aumentando la persistencia de los hetero-PAHs en los suelos.

Para benzofurano podemos ver que existe un comportamiento similar en todos los suelos a temperatura ambiente y a 4° C. El P2 es el suelo en el que esta molécula se disipa más rápidamente, con una diferencia notable con el resto de los suelos. El suelo Kettering, tras el P2, es en el que presenta el benzofurano una menor persistencia y Askov y Borris tienen un comportamiento parecido siendo los suelos en los que el benzofurano tarda más en desaparecer (Tabla IV.16). La baja adsorción de benzofurano al suelo P2 puede hacer que este compuesto esté más disponible para que sobre él se den los procesos de volatilización y/o degradación, explicándose así la baja persistencia del compuesto en este

suelo. Los resultados obtenidos a 4° C mostraron un aumento en la persistencia de benzofurano en todos los suelos.

Para la disipación de dibenzofurano a temperatura ambiente, el suelo donde ésta se da con mayor rapidez es el Kettering. El P2 es el suelo donde este compuesto es más persistente, ocupando Borris y Askov una situación intermedia. Parece que la persistencia del dibenzofurano en estos suelos está relacionada con el contenido en materia orgánica de los suelos, de tal manera que a mayor contenido en materia orgánica una mayor actividad microbiana podría haber favorecido la degradación. En el caso de la disipación de dibenzofurano a 4° C, la persistencia de los compuestos se hace mayor en todos los suelos, lo que se puede explicar por la disminución de la actividad microbiana con la temperatura, como hemos dicho anteriormente, y al hecho de que la adsorción suele aumentar al disminuir temperatura. El orden de persistencia es el mismo que vimos para temperatura ambiente excepto para el suelo P2 cuya persistencia se iguala al suelo Kettering. Esto se debe a que el aumento en la persistencia del suelo P2 es sensiblemente inferior a la del resto de los suelos. Es probable que al ser el suelo con una capacidad de adsorción y degradación menor sea el que menos se vea afectado por el descenso de temperatura.

En acridina se observa un gran aumento en la persistencia al disminuir la temperatura. De hecho, a 4° C no se observó una disminución significativa de la concentración de acridina en los suelos durante los 45 días que duró el experimento de disipación. El suelo que presenta una mayor capacidad de disipación a temperatura ambiente, destacado respecto al resto, es el Borris, seguido por Askov y, en último lugar, los suelos P2 y Kettering con un comportamiento muy parecido. Este comportamiento no está relacionado con el contenido en materia orgánica de los suelos; sin embargo, puede estar relacionado con su contenido en componentes inorgánicos. El suelo Borris es el que tiene el menor porcentaje de arcilla de todos (6.9%), seguido del suelo Askov (10.4) y, por último los suelos P2 y Kettering (20.3 y 24.5%, respectivamente). Es posible que los componentes minerales de los suelos adsorban la acridina protegiéndola de la degradación, como ya revelaron los experimentos de adsorción a fracciones arcillas y a adsorbentes modelos.

La influencia de la concentración inicial en la persistencia se evaluó realizando un experimento de disipación con dibenzofurano a una dosis de 10 mg/kg en lugar de la de 100 mg/kg utilizada en los ensayos anteriores. Los resultados se presentan en la Figura IV.10.

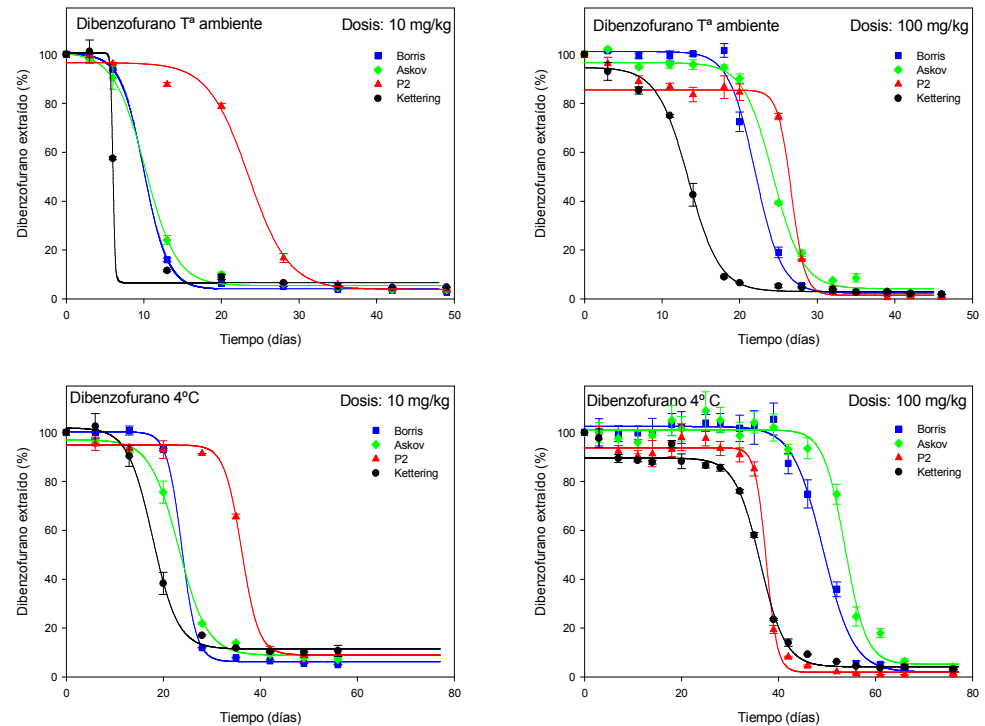


Figura IV.10. Influencia de la concentración inicial en las curvas de disipación de dibenzofurano en los suelos Borris, Askov, P2 y Kettering a temperatura ambiente y a 4° C. Los símbolos corresponden a los datos experimentales, mientras que las curvas corresponden al ajuste de los mismos a la ecuación Ec.2.

Los resultados obtenidos se ajustaron bastante bien a una ecuación de tipo sigmoideal con 4 constantes de disipación, al igual que vimos para dibenzofurano y acridina a 100 mg/kg. Los valores de las constantes cinéticas obtenidos tras el ajuste se expresan en la Tabla IV.17.

A partir de las ecuaciones obtenidas calculamos el TD_{50} . Los resultados obtenidos están expresados en la Tabla IV.18.

El orden en la disipación de dibenzofurano a 10 mg/kg en los suelos estudiados fue el mismo a temperatura ambiente y a 4° C. El suelo donde el compuesto mostró una mayor persistencia fue el P2 seguido de Borris y Askov con comportamientos muy similares y, por último, el suelo Kettering (Tabla IV.18, Figura IV.10). Este orden coincide con el que se obtuvo en los experimentos de disipación de dibenzofurano a 100 mg/kg a temperatura ambiente.

Tabla IV.17. Constantes cinéticas obtenidas tras ajustar los datos de disipación de dibenzofurano a bajas dosis a la ecuación Ec.2.

DIBENZOFURANO A BAJAS DOSIS				
T^a ambiente				
	Borris	Kettering	Askov	P2
a	96.23 ± 1.22	93.85 ± 1.90	95.38 ± 2.03	92.64 ± 2.73
b	-1.53 ± 0.11	-0.14 ± 0.10	-2.03 ± 0.18	-2.59 ± 0.35
t₀	10.03 ± 0.23	6.02 ± 0.00	10.19 ± 0.30	23.48 ± 0.56
C₀	4.01 ± 0.54	6.75 ± 0.27	5.49 ± 0.80	4.00 ± 1.89
R²	0.999	0.997	0.999	0.996
4° C				
	Borris	Kettering	Askov	P2
a	93.94 ± 0.79	90.40 ± 2.07	88.16 ± 2.29	85.81 ± 2.45
b	-1.53 ± 0.08	-2.59 ± 0.27	-2.96 ± 0.32	-1.77 ± 0.50
T₀	23.81 ± 0.21	17.85 ± 0.33	23.17 ± 0.45	36.14 ± 0.42
C₀	6.33 ± 0.52	11.51 ± 1.04	8.90 ± 1.42	9.09 ± 1.99
R²	0.999	0.998	0.998	0.997

Todos los TD₅₀ obtenidos para el experimento de disipación de benzofurano a 10 mg/kg están por debajo de los obtenidos para la concentración inicial de 100 mg/kg (Tabla IV.18). Además, en las representaciones gráficas de los resultados se observó que la fase de latencia es sensiblemente más corta que la correspondiente a dosis más altas (Figura IV.10). Estos resultados están de acuerdo con el efecto de las dosis de aplicación en la persistencia de compuestos orgánicos encontrado por otros autores (Gan *et al.*, 1995; Beigel *et al.*, 1999). Al igual que para las dosis de 100 mg/kg, la persistencia de dibenzofurano fue mayor para los experimentos llevados a cabo a 4° C que los realizados a temperatura ambiente (Tabla IV.18).

Tabla IV.18. TD₅₀ calculados a partir de las ecuaciones de disipación obtenidas para dibenzofurano a 10 y 100 mg/kg en los diferentes suelos a temperatura ambiente y 4° C.

	Dibenzofurano 10 mg/kg		Dibenzofurano 100 mg/kg	
	T^a amb.	4° C	T^a amb.	4° C
Borris	10.2	24	22.1	49.5
Kettering	6.0	18.6	13.3	35.9
Askov	10.5	23.6	24.3	54.0
P2	23.5	36.3	26.4	37.3

Podemos concluir, por tanto, que el contenido en materia orgánica del suelo, su composición mineral, la naturaleza química y la concentración inicial de la molécula y la temperatura son factores que van a determinar la persistencia de los hetero-PAHs en los suelos estudiados.

IV.2.3. Estudios de movilidad de los hetero-PAHs en columnas de suelo.

Los estudios de movilidad en columnas se llevaron a cabo para evaluar el posible riesgo de lixiviación de las moléculas estudiadas y los factores de los que depende. Para ello se realizaron experimentos en columnas empaquetadas a mano e inalteradas. Además, se determinó la influencia de distintas dosis iniciales de compuesto orgánico y de la materia orgánica disuelta en la lixiviación de los hetero-PAHs.

IV.2.3.1. Estudios de movilidad en columnas empaquetadas a mano.

Curvas de elución.

Los estudios en columnas empaquetadas a mano realizados con los hetero-PAHs objeto de estudio en este trabajo revelaron una lixiviación muy baja de dibenzofurano y acridina, siendo ésta menor al 0.05% de lo aplicado en ambos casos incluso tras la adición de 300 ml de agua lo que equivale a 400 mm de agua añadida. En el caso de benzofurano, las cantidades lixiviadas fueron sensiblemente mayores. Las curvas de elución acumuladas de benzofurano en los suelos Borris, Askov, P2 y Kettering están representadas en la Figura IV.11.

Estos resultados están en concordancia con los obtenidos en los experimentos de adsorción a los suelos, que pusieron de manifiesto que la adsorción de acridina y dibenzofurano era mucho mayor que la de benzofurano, por lo que cabe pensar que quedarán mucho más retenidos por los suelos y mucho menos disponibles para la lixiviación. Los resultados también reflejan las diferencias entre las solubilidades en agua de los hetero-PAHs, pues benzofurano tiene una solubilidad mucho mayor que acridina y dibenzofurano (Tabla III.1) y tendrá una mayor tendencia a moverse con el agua que percola a través de la columna y, por tanto, a lixiviar.

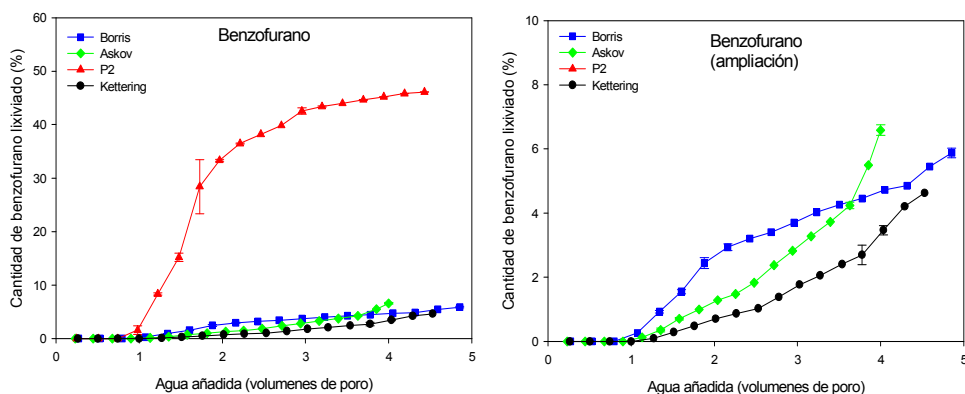


Figura IV.11. Curvas de elución acumuladas de benzofurano para columnas empaquetadas con suelos Borris, Askov, P2 y Kettering y ampliación para Borris, Askov y Kettering.

Fijándonos en las curvas de elución acumuladas de benzofurano para los suelos Borris, Askov, Kettering y P2 que hemos representado en la Figura IV.11, podemos ver que el suelo en el que benzofurano lixivia en mayor porcentaje es el suelo P2 (alrededor de un 46% de la cantidad aplicada). El resto de suelos presenta un porcentaje de lixiviación bastante menor, no pasando ninguno de ellos del 8%. Esta gran diferencia entre la lixiviación de benzofurano en el suelo P2 y en el resto de los suelos puede explicarse, fundamentalmente, por dos motivos: a) por ser el suelo P2 el que tiene el menor porcentaje en materia orgánica de todos los suelos, lo que hace que la molécula de benzofurano se adsorba menos respecto al resto de suelos (Tabla IV.4) y, por tanto, esté más disponible para la lixiviación y b) por su estructura, ya que, junto con el suelo Borris es el que presenta una mayor cantidad de macroporos (Figura IV.2), por lo que la molécula de benzofurano tendrá menos interacciones con el suelo al atravesar su matriz.

Las ampliaciones realizadas a las curvas de elución acumuladas de benzofurano en los suelos Borris, Kettering y Askov (Figura IV.11) revelan que la cantidad lixiviada es muy similar en los 3 suelos, lo que podría explicarse por el similar contenido de materia orgánica de los mismos (ver Tabla IV.1). Sin embargo, es interesante destacar que en las columnas de suelo Askov y Kettering el benzofurano lixivia ligeramente más tarde que en el suelo Borris. Esto podría ser debido a las diferentes distribuciones de tamaño de poro de los suelos, ya que en los suelos Askov y Kettering hay presentes poros de menor tamaño que en el suelo Borris (Figura IV.2) y, por tanto, el movimiento del benzofurano a través de la matriz de estos suelos podría haber tenido lugar más lentamente.

Distribución en las columnas.

Con el fin de determinar la distribución de los hetero-PAHs a través del perfil de las columnas, tras el experimento de lixiviación se realizaron extracciones a diferentes profundidades. Los resultados obtenidos se presentan en la Figura IV.12. También se adjunta en cada una de las gráficas las cantidades totales extraídas, lixiviadas y no recuperadas de cada compuesto para cada suelo.

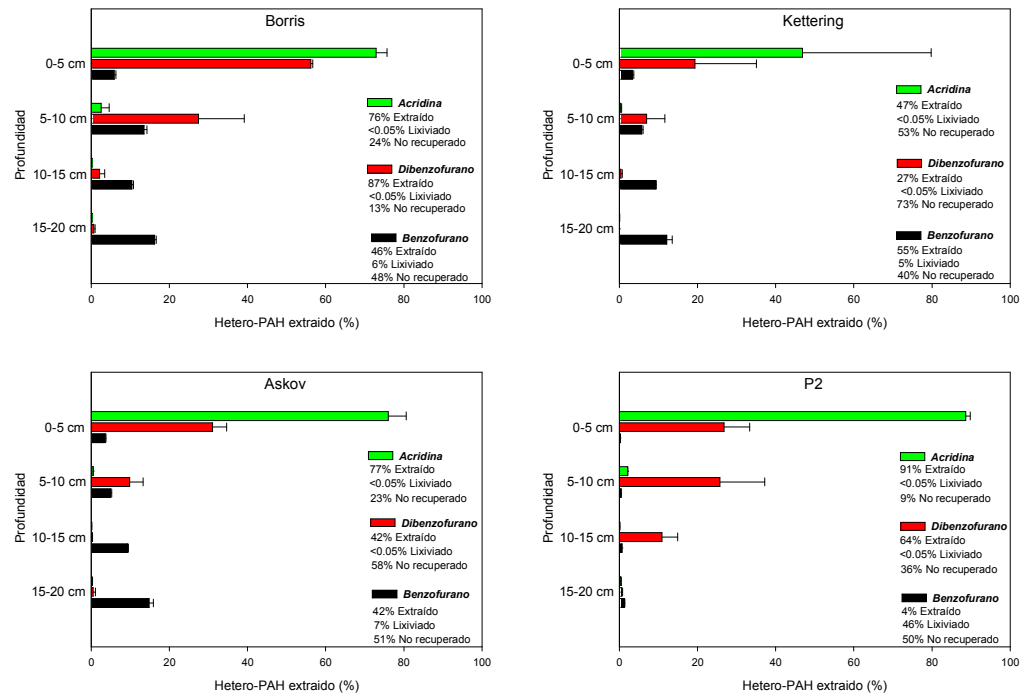


Figura IV.12. Extracciones de acridina, benzofurano y dibenzofurano a distintas profundidades de las columnas empaquetadas a mano de los suelos Borris, Kettering, Askov y P2. Se dan las cantidades extraídas, lixiviadas y no recuperadas de los hetero-PAHs en cada uno de los suelos.

A la vista de los resultados podemos ver que acridina y dibenzofurano tienden a acumularse en los 10 primeros centímetros de profundidad mientras que el benzofurano alcanza mayores profundidades (Figura IV.12). La alta adsorción de acridina y dibenzofurano a los suelos estudiados explica la escasa movilidad de estos compuestos.

A pesar de que acridina y dibenzofurano son compuestos con una alta adsorción a los suelos, se pueden apreciar ciertas diferencias en sus comportamientos. Mientras que en

el rango de profundidad de 0 a 5 cm las mayores concentraciones son las correspondientes a acridina, en el rango que va desde 5 a 10 cm de profundidad las mayores concentraciones corresponden a dibenzofurano (Figura IV.12). Acridina, al tener coeficientes de adsorción a los suelos superiores a los de dibenzofurano (Tabla IV.4) y presentar mayor irreversibilidad del proceso de adsorción-desorción (Figura IV.7), se acumula casi en su totalidad en los primeros 5 cm de suelo, mientras que dibenzofurano se reparte entre los primeros 10 cm de suelo con cantidades importantes en el rango de 5 a 10 cm. Así pues, se pone de manifiesto la importancia del heteroátomo presente en el hetero-PAH, ya que éste dará a la molécula propiedades diferentes y una movilidad distinta en el suelo.

Si comparamos las cantidades totales extraídas de acridina y dibenzofurano para cada uno de los suelos podemos ver que, excepto para el suelo Borris, estas cantidades son mayores para acridina. Estos resultados pueden relacionarse con la persistencia de estos hetero-PAHs en los suelos donde, excepto en el suelo Borris, la persistencia de acridina se mostró mayor que la de dibenzofurano (Figura IV.9). Llama la atención el alto porcentaje de acridina recuperada en el suelo P2 y el de dibenzofurano recuperado en el suelo Borris estando ambos alrededor de un 91%. Esto indica que apenas se han producido procesos degradativos en estos suelos.

En el suelo P2, se encontraron cantidades considerables de dibenzofurano en el rango de 10 a 15 cm de profundidad. Al ser el suelo con menos materia orgánica de todos es también el que lo retiene en menor medida permitiendo así que el compuesto esté más libre para lixiviar y, por tanto, para alcanzar profundidades mayores. El porcentaje no recuperado de esta molécula en el suelo Kettering fue de un 73%. Esta cantidad fue muy superior a la del resto de suelos y apoya los resultados que encontramos en los experimentos de disipación donde es en el suelo Kettering donde el dibenzofurano presenta una persistencia menor.

En el caso de benzofurano vemos que las concentraciones aumentan a medida que aumenta la profundidad, de tal modo, que la mayoría se acumula en el tramo de 15-20 cm de profundidad. Este comportamiento es debido a su baja adsorción a los suelos, lo cual le permite una mayor capacidad para llegar a mayores profundidades que en el caso de acridina y dibenzofurano. El porcentaje extraído en el caso de los suelos Borris, Kettering y Askov estuvo comprendido entre un 40 y un 60% del benzofurano aplicado, mientras que, en el caso del suelo P2, la cantidad fue sensiblemente inferior, rondando el 4%, debido a que la mayor parte del benzofurano ya había lixiviado.

Influencia del pH y de la materia orgánica en la movilidad de los hetero-PAHs.

Para profundizar en la influencia del pH y de la materia orgánica en la movilidad de los hetero-PAHs se realizaron experimentos de movilidad con acridina en el suelo Norway. La cantidad lixiviada fue similar a la obtenida en los otros suelos, <0.05% de la cantidad aplicada. Además, se realizaron extracciones de las columnas a diferentes profundidades cuyos resultados están representados en la Figura IV.13.

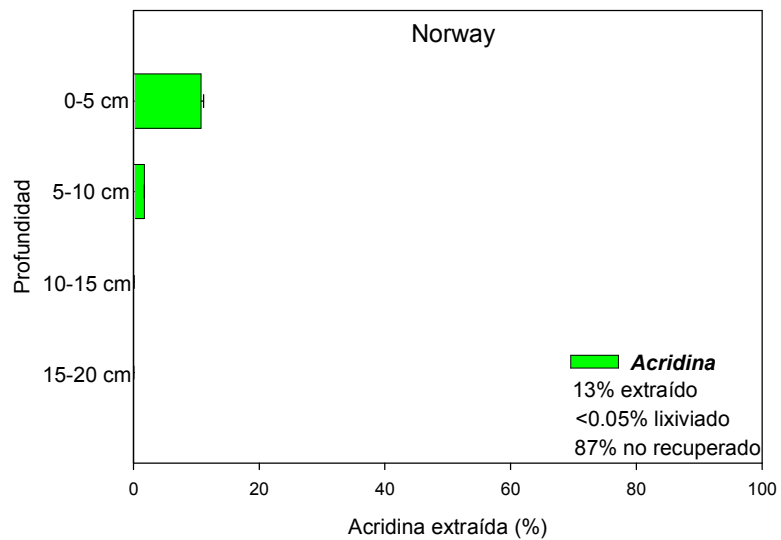


Figura IV.13. Extracciones de acridina a distintas profundidades de la columna empacitada a mano del suelo Norway. Además, se dan las cantidades extraídas, lixiviadas y no recuperadas de acridina en el suelo Norway.

Como se puede apreciar, el porcentaje extraído de acridina en el suelo Norway es de un 13% y está muy por debajo de los valores obtenidos en la extracción del resto de suelos. Este hecho, junto con el bajo porcentaje de acridina lixiviada, menos de un 0.05%, nos hace pensar que procesos como la degradación o adsorción irreversible se han dado en este suelo en mayor medida. Casi toda la acridina encontrada está en el anillo superior, al igual que ocurría en el resto de los suelos.

A la vista de los resultados obtenidos en los experimentos de movilidad en columnas podemos afirmar que, bajo condiciones de columnas empacitadas a mano, benzofurano es el hetero-PAH que tiene un mayor riesgo de lixiviar, mientras que dibenzofurano y

acridina son moléculas con una movilidad reducida en suelos y, por tanto, con un riesgo mínimo de lixiviar.

Modelos de lixiviación.

Existen modelos propuestos por diferentes autores para predecir el riesgo de lixiviación de una molécula y, por tanto, su capacidad para contaminar aguas subterráneas. En este trabajo hemos confrontado los resultados obtenidos con los dos modelos descritos en el apartado I.2.2.1.1.

En el primero de ellos, a menudo se considera que compuestos con K_{oc} inferiores a 500 tienen un riesgo elevado de lixiviar, mientras que los que presentan K_{oc} superiores a 500 presentan un riesgo bajo (Kearney *et al.*, 1997). Según este modelo, el benzofurano tendría un elevado potencial de lixiviación ya que todos sus K_{oc} están por debajo de 500, mientras que dibenzofurano y acridina tendrían un bajo potencial de lixiviación al estar sus K_{oc} por encima de 500 (Tabla IV.4). Estos resultados coinciden con los encontrados en los experimentos de movilidad en columnas empaquetadas a mano discutidos anteriormente.

El otro modelo evaluado para predecir el riesgo de contaminación de aguas subterráneas es el propuesto por Gustafson (1989). En este modelo el autor se basa en la obtención del índice GUS a partir del K_{oc} y del $t_{1/2}$ mediante la fórmula:

$$GUS = \log(t_{1/2}) \cdot [4 - \log(K_{oc})] \quad \text{[Ec.3]}$$

donde $t_{1/2}$ es el tiempo de vida media del compuesto en el suelo y K_{oc} es su coeficiente de adsorción normalizado al contenido de carbono orgánico.

Si el índice obtenido es mayor de 2.8, el riesgo de lixiviación sería alto, mientras que valores inferiores a 1.8 indicarían un riesgo bajo de lixiviación.

Los valores de los índices GUS obtenidos con los resultados de los experimentos de adsorción y disipación de nuestros compuestos en los suelos (ver apartados IV.3.1.1.1 y IV.3.2) están recogidos en la Tabla IV.15.

Según los índices GUS expresados en la Tabla IV.19 dibenzofurano y acridina tendrían claramente un riesgo bajo de contaminación de aguas subterráneas en los suelos

estudiados (GUS <1.8), lo que coincide con el comportamiento observado en las experiencias de movilidad en columnas para estos compuestos.

Tabla IV.19. Índices GUS calculados con los datos obtenidos en los experimentos de adsorción y disipación en suelos mediante la ecuación Ec.3.

	<i>Índices GUS</i>			
	<i>Borris</i>	<i>Kettering</i>	<i>Askov</i>	<i>P2</i>
Benzofurano	1.7	1.6	1.7	0.6
Dibenzofurano	0.5	0.6	0.6	0.8
Acridina	0.2	0.9	0.4	0.5

Para benzofurano, a excepción del suelo P2 para el que el índice predice un mínimo riesgo de lixiviación, los índices están muy próximos al rango de transición (1.8-2.8). La diferencia entre el comportamiento predicho por los índices GUS y el encontrado en los experimentos de movilidad en columna, que indica una elevada lixiviación de benzofurano en el suelo P2, probablemente se deba al bajo $t_{1/2}$ empleado en el cálculo de dicho índice, que se obtuvo en los experimentos de disipación en condiciones diferentes a las que se llevaron a cabo los de movilidad en columna. Parece que la persistencia de benzofurano pudiera haber sido mayor en los experimentos de movilidad en columnas y, por tanto, que hubiese lixiviado un mayor porcentaje del que predice el índice GUS (ver apartado IV.3.2).

IV.2.3.1.1. Influencia de la materia orgánica disuelta en la lixiviación.

Los experimentos de lixiviación con materia orgánica disuelta (MOD) para los distintos hetero-PAHs se realizaron con los suelos Borris y P2 y los resultados obtenidos están representados en la Figura IV.14. A modo comparativo también están representados los resultados de los experimentos de lixiviación para los mismos suelos realizados con agua.

Como puede observarse, el efecto de la MOD puede ser muy diferente dependiendo del compuesto y del tipo de suelo. La presencia de MOD aumenta la lixiviación de acridina y disminuye la de benzofurano en ambos suelos. Para dibenzofurano la presencia de MOD tiene un efecto diferente dependiendo del suelo (Figura IV.14).

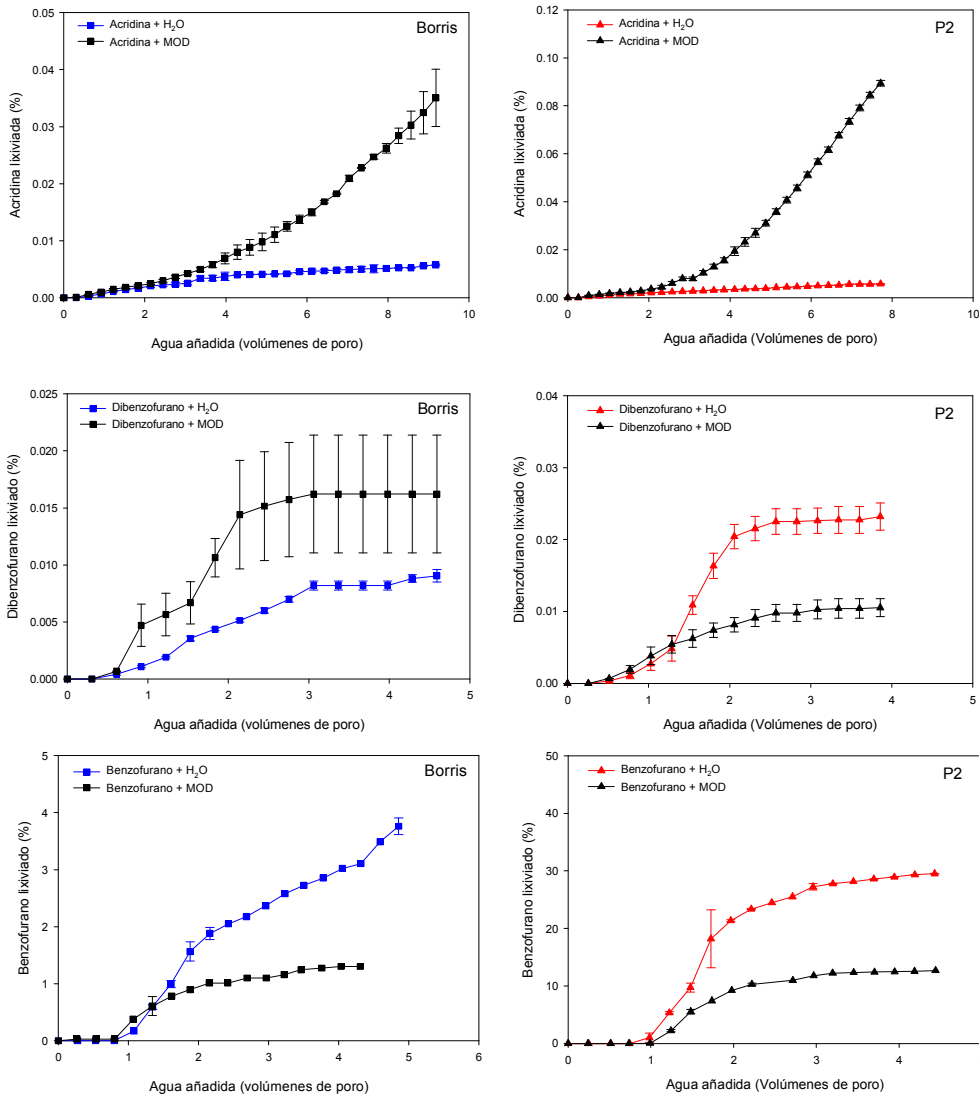


Figura IV.14. Curvas de elución acumuladas de acridina, dibenzofurano y benzofurano en columnas empaquetadas a mano con los suelos Borris y P2 eluidas con agua y MOD.

Para explicar los efectos de la MOD observados, hay que considerar que la MOD puede actuar de dos formas sobre la adsorción de los compuestos orgánicos (Rav-Acha y Rebhun, 1992; Celis *et al.*, 1998c): a) puede disminuir la adsorción por la formación de complejos solubles y compitiendo por los sitios de adsorción del suelo y b) puede aumentar la adsorción cuando el complejo compuesto orgánico-MOD tiene una mayor afinidad por el

suelo que el compuesto orgánico solo. En la Figura IV.15 se representan esquemáticamente los dos mecanismos descritos anteriormente.

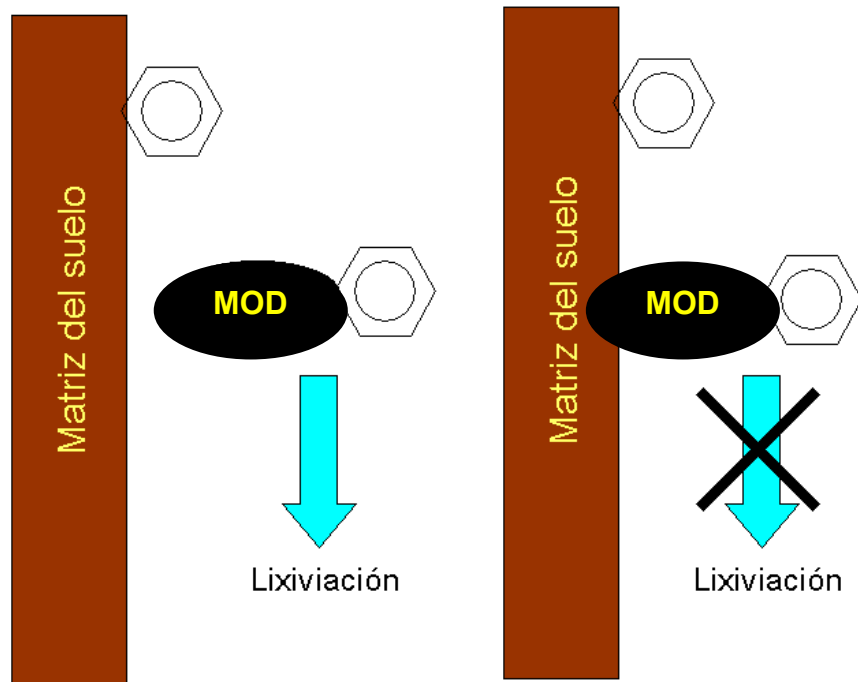


Figura IV.15. Esquema de los posibles comportamientos que se dan en la lixiviación de los hetero-PAHs a través del suelo Borrís y P2 en presencia de MOD.

Parece ser que el primer mecanismo predomina en el caso de la acridina y el segundo en el caso del benzofurano, mientras que para el dibenzofurano el mecanismo predominante depende del tipo de suelo.

Para indagar en el comportamiento dispar de dibenzofurano frente a la MOD se determinaron los valores de K_d para la adsorción de dibenzofurano a los suelos Borrís y P2 en presencia y ausencia de MOD. En el suelo Borrís la presencia de la MOD disminuyó el valor de K_d de 63 a 45 l/kg. Por el contrario, en el suelo P2 la presencia de MOD aumentó el valor de K_d de 17 a 33 l/kg, mostrándose de este modo un comportamiento diferente frente a los dos suelos. En experimentos paralelos también comprobamos un aumento de la solubilidad de dibenzofurano de 4.4 mg/l en agua a 13.2 mg/l en MOD, demostrándose de este modo que existe una interacción entre dicha molécula y la MOD. Estos resultados nos hacen pensar que en el suelo Borrís puede darse un transporte facilitado de la molécula de

dibenzofurano mediante el complejo MOD–dibenzofurano, mientras que en el suelo P2 este complejo tendría una adsorción preferencial a los componentes del mismo. El diferente contenido en arcilla puede ser clave en los distintos comportamientos que muestran ambos suelos frente a dibenzofurano, ya que la fracción arcilla, más abundante en el suelo P2, es el componente más importante en la unión de la materia orgánica al suelo y, por tanto, en disminuir su movilidad (Cornejo y Hermosín, 1996; Shen, 1999; Cox *et al.*, 2000).

Una vez finalizado el experimento de lixiviación se realizaron extracciones de los hetero-PAHs a distintas profundidades para ver su distribución a lo largo del perfil de la columna de suelo. Los resultados obtenidos están representados en la Figura IV.16. Junto con ellos, a título comparativo, se exponen los porcentajes recuperados, lixiviados y no recuperados de los distintos hetero-PAHs para cada uno de los suelos obtenidos con las columnas realizadas con agua y con MOD.

En general, podemos ver que, excepto para el caso de dibenzofurano en el suelo P2, la presencia de MOD conlleva un aumento de la cantidad no recuperada de hetero-PAH. Este hecho podría indicar un aumento en la degradación que puede ser consecuencia de una estimulación de la actividad microbiana por la presencia de la MOD.

Se puede observar también que, excepto para los casos de acridina en el suelo P2 y benzofurano en el suelo Borris, la presencia de la MOD trajo como consecuencia un aumento en la movilidad de los hetero-PAHs localizándose mayores cantidades de éstos compuestos a profundidades más altas. Por ejemplo, podemos citar el caso de acridina en el suelo Borris donde, en presencia de la MOD, aparece un porcentaje considerable del compuesto en el rango de profundidades que va de 10 a 15 cm, lo que no ocurría en las columnas donde se empleó agua como eluyente. La MOD también produce un cambio radical en el comportamiento de dibenzofurano en ambos suelos donde las mayores cantidades de compuesto se localizan en el rango de profundidades que va de 10 a 20 cm, mientras que, en las columnas eluidas con agua, la mayoría del compuesto se encontraba en el rango de profundidades comprendido entre 0 y 10 cm.

En resumen, la presencia de MOD, dependiendo del compuesto orgánico y del tipo de suelo, puede tanto aumentar como disminuir la lixiviación, lo que hace difícil predecir el comportamiento de las moléculas en suelos con alto contenido en MOD. En compuestos con una alta adsorción a los suelos, como el caso de la acridina, la MOD puede formar complejos solubles con el compuesto favoreciendo de esta manera su desorción y, por tanto, aumentando su lixiviación. Por el contrario, en moléculas con una baja adsorción a

los suelos, como el caso del benzofurano, la MOD puede actuar favoreciendo la adsorción de estas moléculas al suelo, retrasando de esta manera su lixiviación. En moléculas con una adsorción intermedia a los suelos, como el caso del dibenzofurano, en su comportamiento podrían influir otros factores como el contenido en arcilla. Suelos con bajo contenido en arcilla permitirían una mayor lixiviación del compuesto mientras que suelos con un alto contenido en arcilla disminuirían su lixiviación.

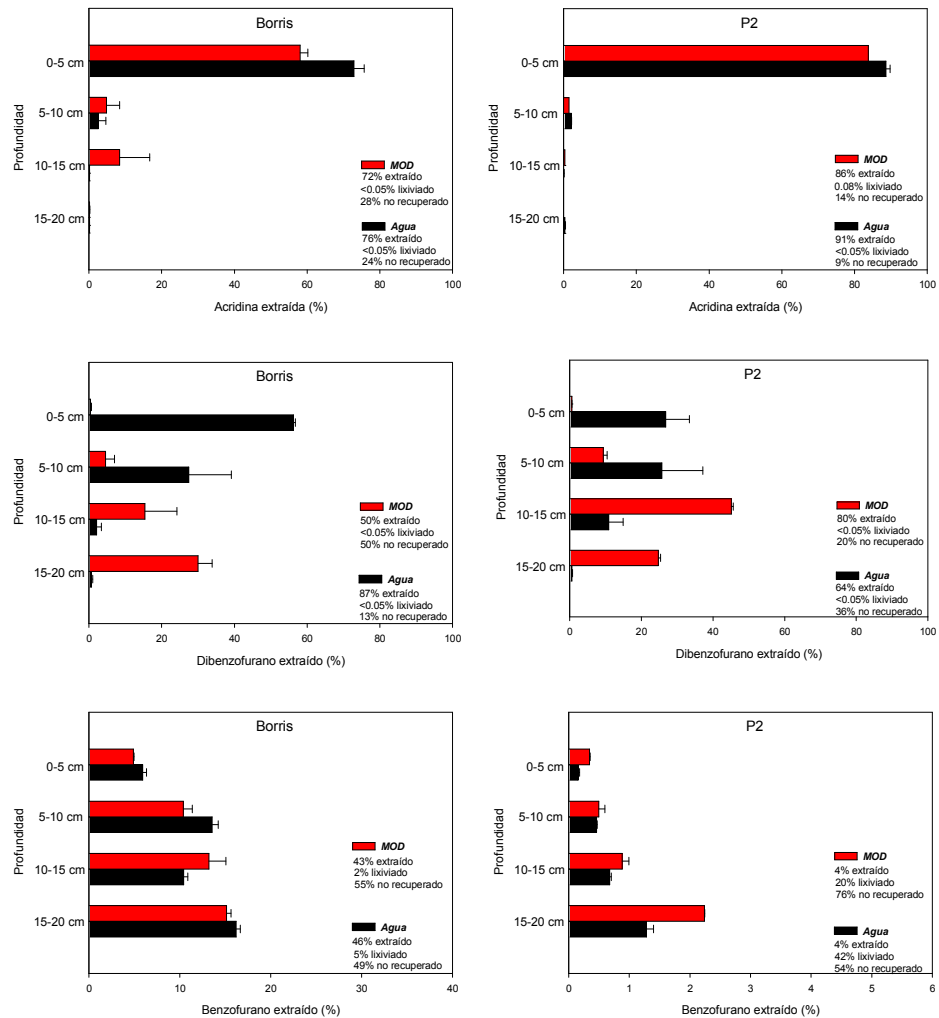


Figura IV.16. Extracciones de los hetero-PAHs a distintas profundidades de las columnas empaquetadas a mano utilizadas para los experimentos de lixiviación con MOD. También se adjunta, a título comparativo, los datos obtenidos en los mismos experimentos con agua.

IV.2.3.1.2. Influencia de la dosis inicial en la lixiviación de dibenzofurano.

Los experimentos de lixiviación de dibenzofurano en columnas empacetas a mano con los suelos Borris, Kettering, Askov y P2 se repitieron a una dosis inicial de 10 kg/ha, en vez de la de 100 kg/ha utilizada en los experimentos anteriores, para evaluar el efecto de la dosis de aplicación en la lixiviación. Al igual que se observó para una dosis de aplicación de 100 kg/ha la cantidad total de dibenzofurano lixiviado fue inferior al 0.05% para todos los suelos.

Los resultados obtenidos en las extracciones de las columnas realizadas a la finalización del experimento de lixiviación a dosis iniciales de 10 y 100 kg/ha de dibenzofurano se comparan en la Figura IV.17.

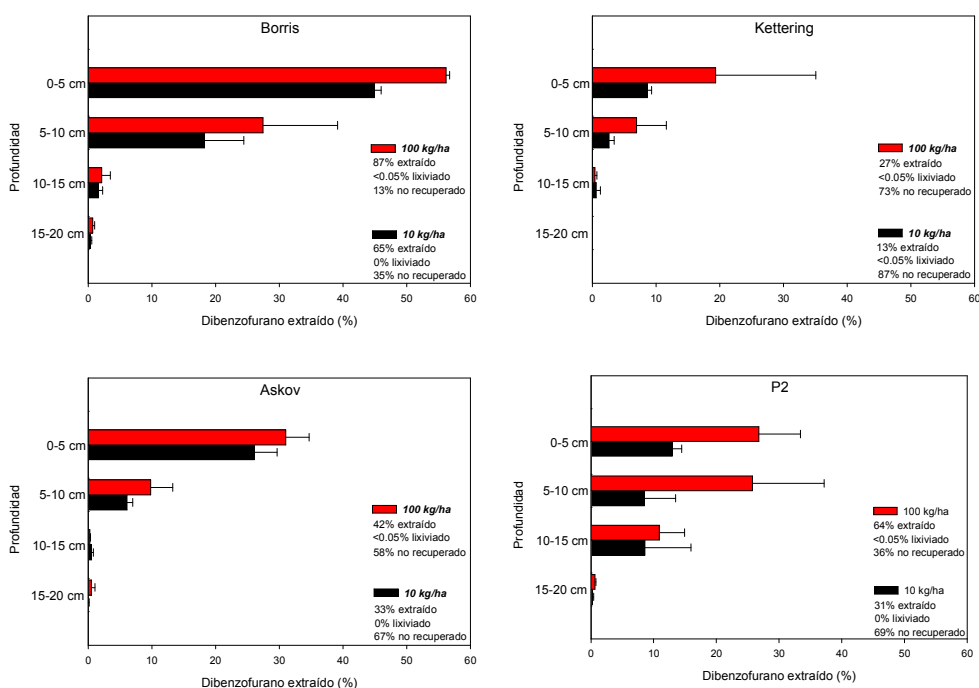


Figura IV.17. Extracciones de dibenzofurano a distintas profundidades obtenidas de las columnas empacetas a mano utilizadas para los experimentos de lixiviación a dosis iniciales de 10 y 100 kg/ha.

Se puede apreciar que tanto a 10 como a 100 kg/ha el compuesto se sigue acumulando en los 10 primeros cm de suelo. Para el caso del suelo P2 podemos encontrar

una cantidad apreciable en el rango de profundidad que va de 10 a 15 cm para ambas dosis iniciales. Así pues, vemos que el movimiento a través del suelo es similar a las diferentes dosis de aplicación.

Como se puede apreciar en la Figura IV.17 la cantidad de dibenzofurano no recuperado para la dosis inicial de 10 kg/ha oscila entre 35 y 87%, mientras que, para la dosis inicial de 100 kg/ha va de 13 a 73%. Para los 4 suelos empleados en este experimento los porcentajes no recuperados de dibenzofurano son mayores mientras menor es la dosis de aplicación inicial. Asumiendo que sobre la mayor parte de la fracción no recuperada han tenido lugar procesos de degradación, podemos decir que mientras más baja es la dosis de aplicación mayor es la repercusión de los procesos degradativos. Estos resultados están en la misma línea que los obtenidos en los experimentos de incubación de dibenzofurano, donde observamos que cuanto menor era la dosis de aplicación menor era la vida media de la molécula en el suelo. Esta relación entre la dosis de aplicación inicial y la degradación de compuestos orgánicos también ha sido observada por otros autores (Gan *et al.*, 1995; Beigel *et al.*, 1999).

La cantidad de dibenzofurano recuperada en las columnas de suelo Kettering del experimento de lixiviación a bajas dosis es, al igual que la observada a altas dosis, la menor de todos los suelos. En los experimentos de incubación a bajas dosis vimos que, al igual que a altas dosis, el suelo Kettering es en el que dibenzofurano presenta una persistencia menor.

IV.2.3.1.3. Influencia de la presencia de iones en el medio en la lixiviación de acridina.

La acridina, por su carácter básico y según las condiciones de la disolución del suelo, puede presentar carga eléctrica. Esta propiedad va a determinar en gran medida su adsorción a los suelos. Algunos autores afirman que compuestos N-heterocíclicos se adsorben a los suelos preferentemente en su forma catiónica, incluso cuando el pH de la disolución es mayor que su pK_a (Zachara *et al.*, 1986; Ainsworth *et al.*, 1987; Zachara *et al.*, 1990; O'Loughlin, *et al.*, 2000).

En la disolución del suelo existen iones, existiendo también un aporte de los mismos mediante el agua de riego o lluvia. Estos iones podrían influir en el comportamiento de la acridina en el suelo.

Para estudiar la influencia en la lixiviación de acridina de la presencia de iones se prepararon columnas empaquetadas a mano con suelos Borris y P2 y se eluyeron con CaCl_2 0.01 M en vez de con agua desionizada. Los resultados obtenidos están representados en la Figura IV.18. A modo comparativo, se adjuntan los resultados de los estudios de lixiviación de acridina en columnas empaquetadas a mano eluidas con agua.

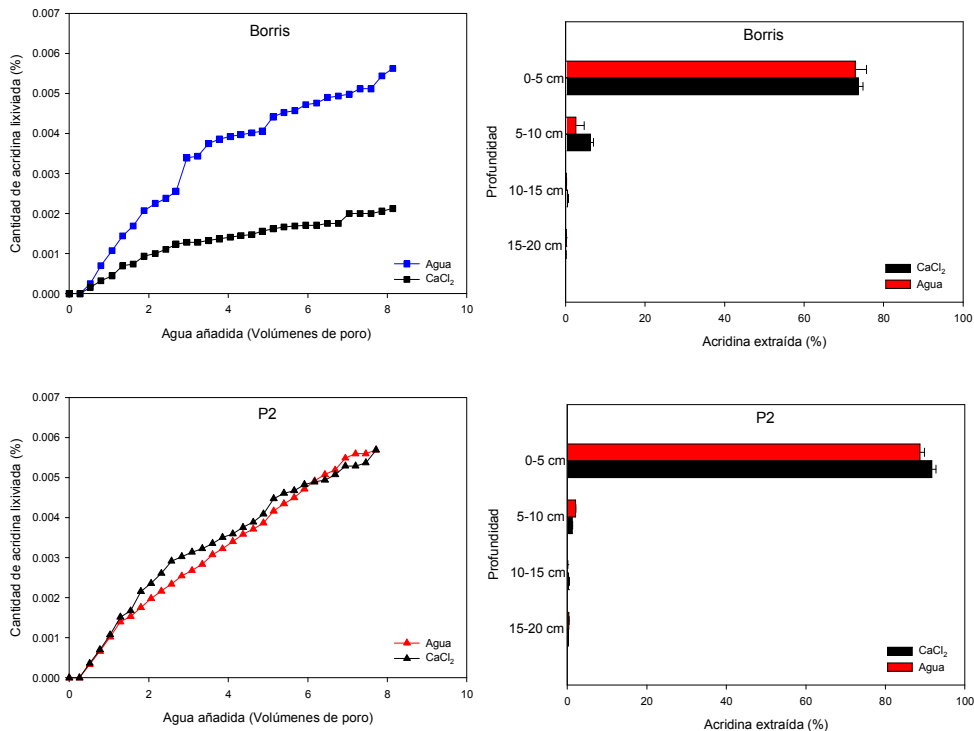


Figura IV.18. Curvas de elución acumuladas y extracciones de las columnas a diferentes profundidades en los experimentos de lixiviación realizados con acridina en columnas empaquetadas a mano con suelo Borris y P2 eluidas con CaCl_2 0.01 M. A título comparativo, se acompañan los resultados obtenidos en los experimentos de lixiviación eluidos con agua.

La presencia de iones no tiene una gran influencia en la lixiviación de acridina. Para ambos suelos la cantidad lixiviada es inferior al 0.007%, de manera que a pesar de la presencia de iones, la acridina sigue mostrándose como una molécula con escasa movilidad.

En los dos suelos, las cantidades de acridina extraídas de las columnas eluidas con CaCl_2 son muy parecidas y están distribuidas de una manera muy similar a las extraídas en

las columnas eluidas con agua. Por lo tanto, podemos concluir que el aporte de iones no parece tener influencia en el comportamiento de acridina ni en su lixiviación en los suelos estudiados. La ausencia de competencia con cationes inorgánicos como el Ca^{2+} parece corroborar la existencia de mecanismos de interacción específicos entre la acridina y las partículas del suelo.

IV.2.3.2. Estudios de movilidad de dibenzofurano en columnas inalteradas.

Los estudios en columnas inalteradas se realizaron para determinar como podía afectar a la lixiviación la estructura del suelo. El suelo P2 fue el escogido para este experimento. Las columnas se regaron con agua y con MOD tras aplicar dibenzofurano a una dosis de 100 kg/ha. Los resultados obtenidos están representados en la Figura IV.19.

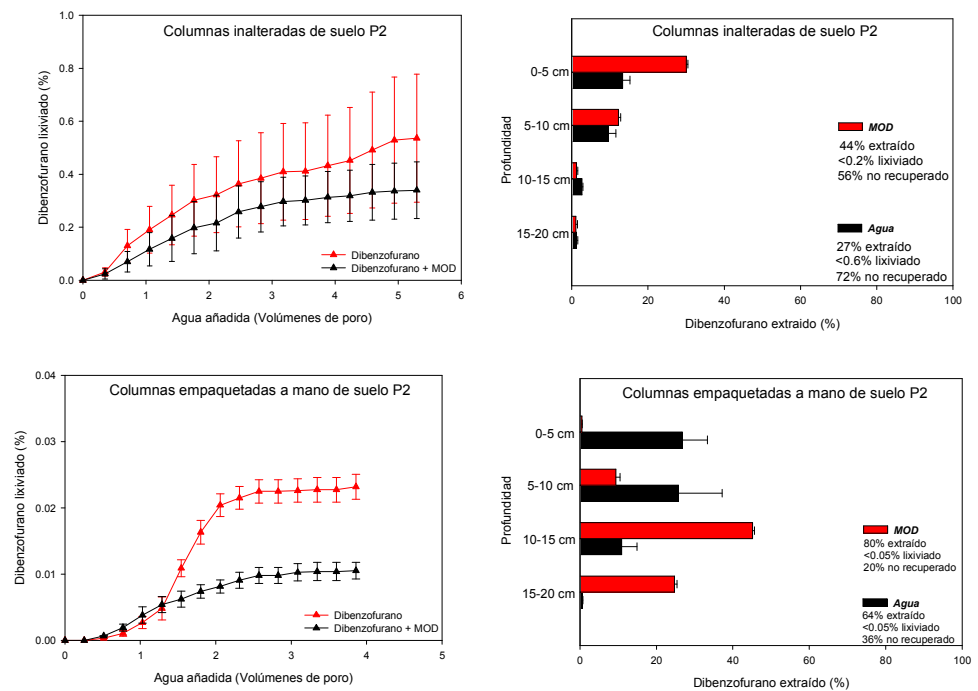


Figura IV.19. Curvas de elución acumuladas y extracciones de las columnas a diferentes profundidades en los experimentos de lixiviación realizados con dibenzofurano en columnas inalteradas de suelo P2. A título comparativo, se acompañan los resultados obtenidos en los experimentos de lixiviación realizados en columnas empaquetadas a mano con suelo P2 a la misma dosis de aplicación.

La cantidad de dibenzofurano lixiviado en las columnas inalteradas fue muy pequeña, 0.54% del total aplicado. Sin embargo, esta cantidad es mayor que la que encontramos en las columnas empaquetadas a mano, que fue del 0.023% del total aplicado. Estos resultados sugieren que el aumento en la lixiviación encontrado en las columnas inalteradas está íntimamente relacionado con la estructura del suelo, donde la existencia de macroporos facilitaría la lixiviación del compuesto. En las columnas inalteradas respetamos la estructura original del suelo, por lo que los resultados obtenidos en este tipo de columnas deben relacionarse con la estructura heterogénea del suelo.

El efecto de la MOD sobre la lixiviación de dibenzofurano en ambos tipos de columnas, empaquetadas a mano e inalteradas, fue una disminución en la misma, aunque, en el caso de las inalteradas, esta disminución no fue estadísticamente significativa debido al solapamiento de las barras de error (Figura IV.19). Esta alta variabilidad en los resultados probablemente se deba a la heterogeneidad del suelo y llega a enmascarar el efecto de la MOD.

Las extracciones de dibenzofurano realizadas al final del experimento de lixiviación en las columnas de suelo P2 inalterado revelaron que la mayoría del compuesto se encontraba en los 10 primeros centímetros de profundidad, independientemente de que estuvieran eluidas con agua o con MOD. Con estos datos se pone de manifiesto la escasa movilidad del compuesto. Comparando estos resultados con los obtenidos en las columnas empaquetadas a mano podemos ver un comportamiento similar en las extracciones de las columnas eluidas con agua, donde la mayoría del compuesto se encuentra en los 10 primeros centímetros de profundidad. Las extracciones de las columnas empaquetadas a mano eluidas con MOD muestran un comportamiento diferente a las inalteradas, ya que en este caso el dibenzofurano se acumula en los 10 últimos centímetros de suelo.

El dibenzofurano total recuperado de las columnas inalteradas eluidas con agua fue un 27%, mientras que el que se recuperó de las columnas empaquetadas a mano fue de un 64%. En las eluidas con MOD se recuperó un 44% para las inalteradas y un 80% para las empaquetadas a mano. Esta diferencia parece indicar un aumento de la degradación del compuesto bajo las condiciones del suelo inalterado.

Los estudios en columnas inalteradas muestran la importancia de la estructura del suelo y que ésta puede ser determinante para el comportamiento de la molécula. La presencia de macroporos puede aumentar el riesgo de lixiviación del compuesto. En el caso del dibenzofurano hemos visto que en las columnas inalteradas su lixiviación ha sido

25 veces mayor a la observada en los experimentos realizados con las columnas empaquetadas a mano y una mayor incidencia de los procesos degradativos.

IV.2.4. Estudios de toxicidad.

Para evaluar la posible toxicidad en el medio ambiente de los hetero-PAHs se realizaron bioensayos aplicando cada uno de ellos a distintas dosis en macetas de berro (*Lepidium sativum*) con suelo P2. La elección de berro para estos experimentos se debió a su alta sensibilidad frente a los PAHs, además de a su rápido crecimiento (Bogolte *et al.*, 2007). A lo largo de todo el experimento se controló el número de semillas germinadas y las plantas mayores de 1 cm. Los resultados obtenidos están resumidos en la Figura IV.20.

A la vista de los resultados se puede concluir que la presencia de los hetero-PAHs tiene una influencia negativa en el crecimiento de la planta.

Para acridina, de 15 semillas utilizadas en los bioensayos el número de plantas germinadas está, en todos los casos, por encima de 9 si bien, el número de semillas germinadas disminuye con la dosis de acridina aplicada. Además, existe una disminución en la altura de las plantas en función de la dosis de aplicación, de tal modo, que para 5000 mg/kg no llega a sobrepasar ninguna planta el centímetro de altura.

El número de plantas germinadas en las macetas que corresponden al experimento con dibenzofurano oscila entre 6 y 15, y al igual que para acridina, se ve una relación inversa entre la dosis de aplicación y el número de semillas germinadas y la altura de la planta.

En el caso de benzofurano el número de semillas germinadas oscila entre 9 y 15. El efecto de la presencia de benzofurano en el número de semillas germinadas y la altura de las plantas se observa a la dosis de 5000 mg/kg, por debajo de la misma los resultados no son concluyentes. Además de una posible menor toxicidad respecto a la planta, también es posible que las pérdidas por volatilización como consecuencia de la alta presión de vapor de este compuesto hayan impedido que quede suficiente cantidad en el suelo para ejercer la acción tóxica.

IV. Resultados y discusión.

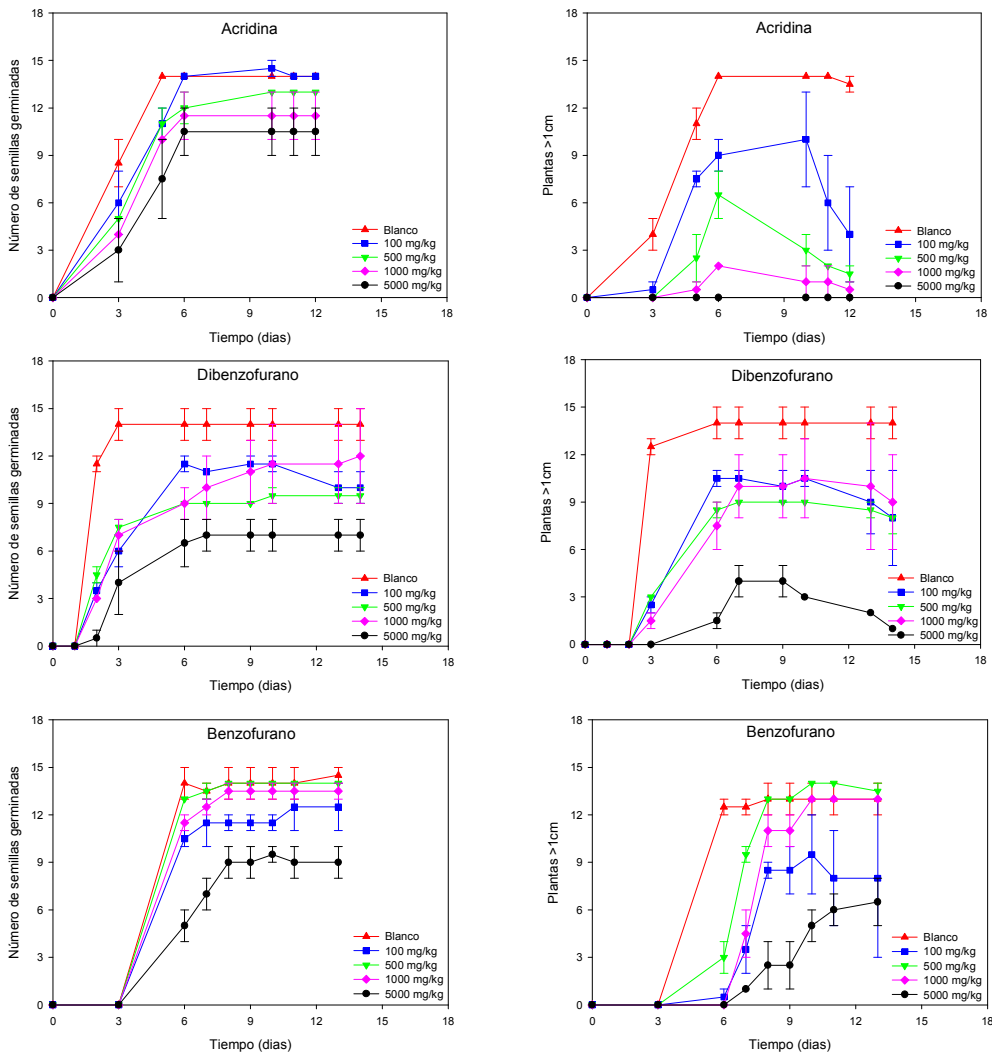


Figura IV.20. Número de semillas germinadas y plantas mayores de 1 cm en función del tiempo obtenidos en los bioensayos realizados con macetas de barro con suelo P2 para acridina, dibenzofurano y benzofurano.

Para completar los experimentos se realizó a una pesada de las plantas que quedaron en las macetas al final de la experiencia. Los resultados están expuestos en la Figura IV.21.

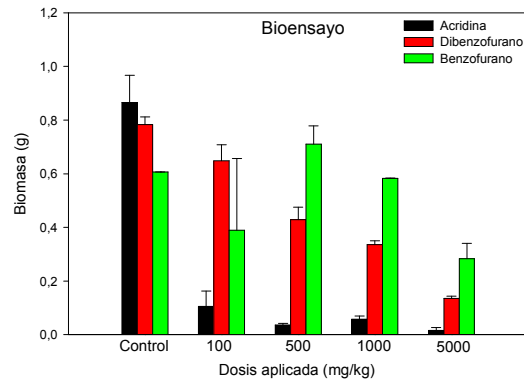


Figura IV.21. Pesos finales de las plantas de berro en función de la dosis para acridina, dibenzofurano y benzofurano.

Se puede observar que acridina es el más tóxico de los hetero-PAHs utilizados en este experimento; en su presencia se obtienen cantidades muy pequeñas de biomasa no pasando ninguna de ellas de 0.2 g. En el caso de dibenzofurano existe una relación inversa muy clara entre la dosis y la cantidad recuperada de biomasa. Para benzofurano, sólo se pone de manifiesto el efecto tóxico para la dosis de 5000 mg/kg. En las de 500 y 1000 mg/kg los valores son muy parecidos a los del control, mientras que para la de 100 mg/kg el error asociado es tan grande que hace que las diferencias no sean estadísticamente significativas. Este comportamiento podría explicarse por la alta presión de vapor de benzofurano que hace que, a dosis menores de 5000 mg/kg, no quede suficiente compuesto para ejercer la acción tóxica sobre el berro.

Se tomaron fotos a lo largo del experimento de bioensayo para un control visual del mismo. Estas fotos se muestran en las Figuras IV.22, IV.23 y IV.24.

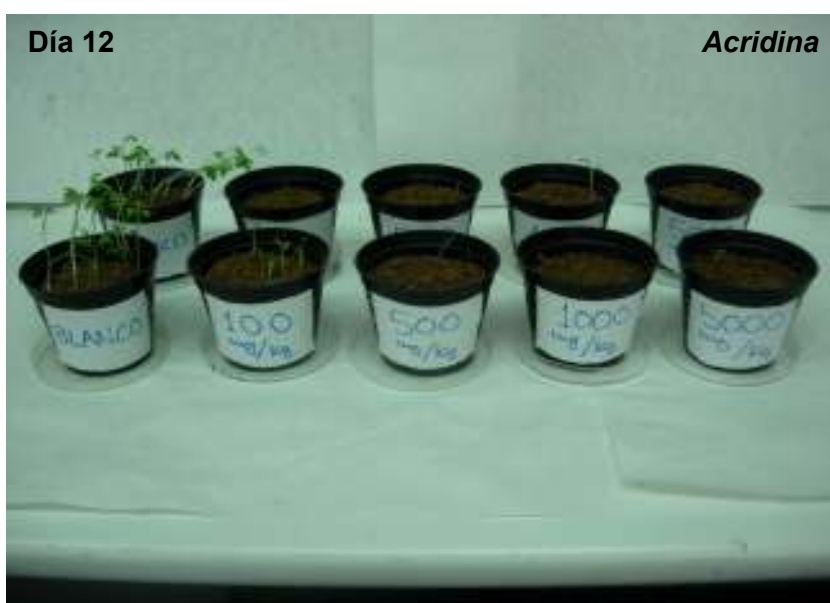


Figura IV.22. Fotografías correspondientes al día 7 y 12 del bioensayo realizado con acridina.



Figura IV.23. Fotografías correspondientes al día 7 y 12 del bioensayo realizado con dibenzofurano.



Figura IV.24. Fotografías correspondientes al día 7 y 12 del bioensayo realizado con benzofurano.

IV.3. EXPERIENCIAS CON ÁCIDOS AROMÁTICOS DE BAJO PESO MOLECULAR.

IV.3.1. Cinéticas de disipación de los ácidos aromáticos en los suelos.

La corta persistencia de los ácidos o-ftálico y salicílico en los suelos estudiados dificultó el estudio de la adsorción mediante procedimientos convencionales (equilibrado durante 24 h), por lo que para los ácidos aromáticos ambos procesos (adsorción y degradación) se estudiaron conjuntamente a través de experimentos de disipación en suspensiones suelo:agua. Los resultados obtenidos se discuten a continuación.

La Figura IV.25 muestra las cinéticas de disipación de los ácidos salicílico, o-ftálico y picloram en los suelos Borris, Kettering, Askov y P2. Durante toda la cinética, la concentración de picloram en disolución se mantuvo constante y próxima al 100% para los cuatro suelos, revelando la alta persistencia de este ácido. Por el contrario, los ácidos salicílico y ftálico desaparecieron rápidamente. La persistencia de los ácidos aromáticos no fue excesivamente dependiente del tipo de suelo, dando el mismo orden de persistencia en todos ellos: picloram >> ácido ftálico > ácido salicílico.

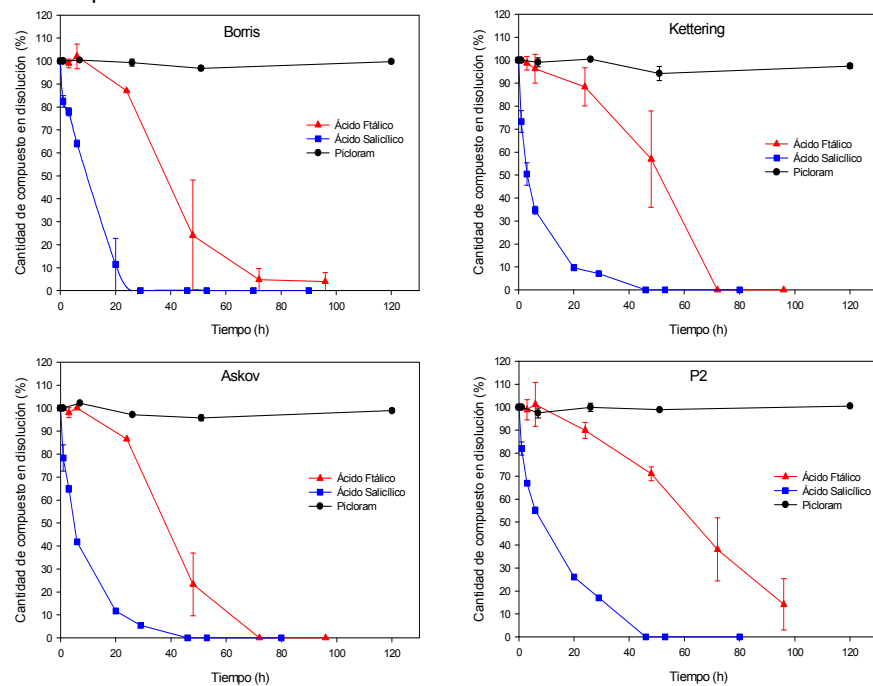


Figura IV.25. Cinéticas de disipación de los ácidos salicílico, o-ftálico y picloram en los suelos Borris, Kettering, Askov y P2 a concentraciones iniciales de 10 μM .

En los puntos iniciales de la cinética, comprendidos en las primeras 10 horas del experimento, se observó que, mientras que las concentraciones de ácido ftálico y picloram se mantenían constantes, la de ácido salicílico disminuía rápidamente. Sabemos que la adsorción suele ser un proceso rápido y, por ello, podríamos postular que esta brusca bajada de la concentración de ácido salicílico a tiempos cortos puede ser debida a su adsorción a los suelos. Por el contrario, podríamos decir que este fenómeno no se da ni con picloram, ni con el ácido ftálico, ya que su concentración se mantiene constante a lo largo de estos puntos iniciales de la cinética.

Para corroborar la hipótesis anterior, se tomaron muestras del suelo P2 a determinados tiempos y se extrajeron para determinar la concentración de los ácidos aromáticos en la fase sólida. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura IV.26.

Como era de esperar, no se recuperó ninguna cantidad de ácido ftálico ni picloram de las muestras de suelo, indicando una baja afinidad de estas sustancias por los suelos. Por el contrario, desde el primer punto de toma de muestra ($t= 1h$) se recuperó ácido salicílico de las muestras de suelo, mostrándose así la existencia de afinidad entre el ácido salicílico y el suelo y, por tanto, dándose el fenómeno de adsorción.

La diferencia entre la cantidad inicial de compuesto y la suma de las cantidades medidas en la disolución y las extraídas del suelo, es decir, las no recuperadas, pueden atribuirse a adsorción irreversible al suelo o a degradación.

Podemos concluir que las bajadas en la concentración de los ácidos salicílico y ftálico durante la cinética de degradación (Figura IV.25) son provocadas por diferentes motivos. La concentración del ácido ftálico probablemente disminuya debido a la degradación que actúa sobre este compuesto, mientras que la bajada de la concentración de ácido salicílico podría deberse tanto a la degradación como a procesos de adsorción. De hecho, la forma de la curva de disipación para el ácido ftálico observada en los experimentos para todos los suelos es típica de procesos de degradación microbiana de compuestos utilizados como sustratos de crecimiento (Kearney *et al.*, 1997; Villa *et al.*, 2003). En este tipo de curvas existe una primera fase de latencia donde la concentración de compuesto se mantiene constante, a la que sigue una segunda fase donde la concentración decrece rápidamente. En el caso del ácido ftálico, la fase de latencia dura unas 10 h aproximadamente en todos los suelos. En trabajos previos se ha descrito la biodegradación rápida de ácidos orgánicos de bajo peso molecular en suelos, incluyendo el ácido ftálico (Evans, 1998).

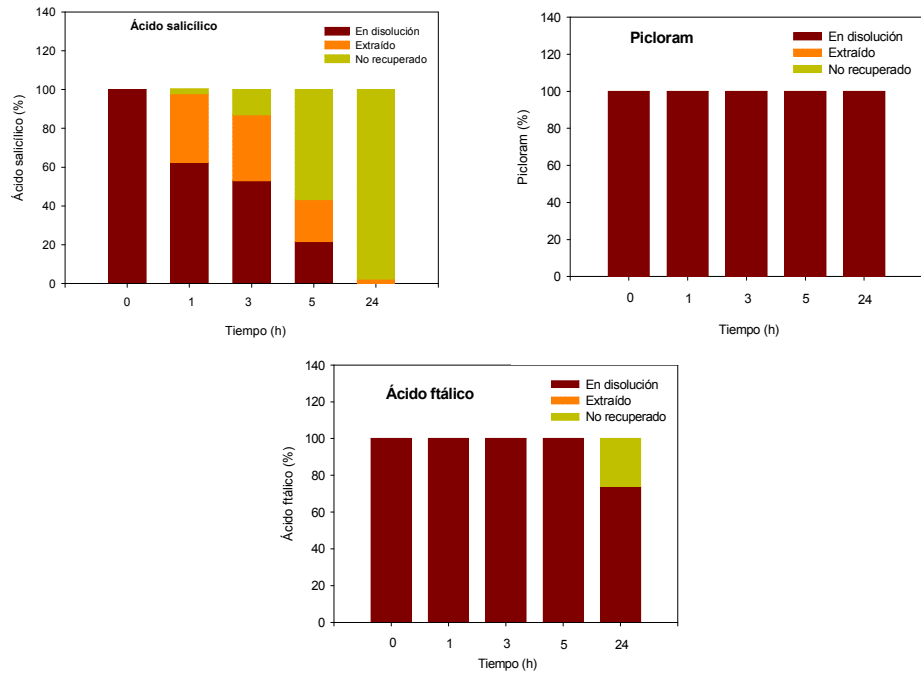


Figura IV.26. Cantidades de picloram, ácido salicílico y ácido ftálico en disolución, recuperadas del suelo y no recuperadas durante la cinética con suelo P2 a concentraciones iniciales de 10 µM.

Es interesante señalar que cuando el experimento cinético con ácido salicílico se repitió a una concentración inicial de 1 mM, para todos los tiempos aumentó la cantidad en la disolución de dicho ácido, disminuyendo a su vez el porcentaje no recuperado respecto al experimento realizado a concentración inicial de 10 µM (Figura IV.27). Esto indica que al aumentar la concentración inicial disminuyen las cantidades relativas de compuesto adsorbido y degradado, aumentando, por tanto, las cantidades biodisponibles del mismo.

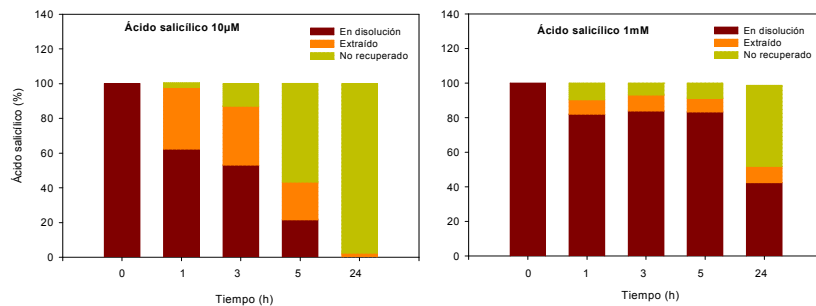


Figura IV.27. Concentraciones de ácido salicílico en disolución, recuperadas del suelo y no recuperadas durante la cinética a las concentraciones iniciales de 10 µM y 1 mM.

IV.3.2. Adsorción a las fracciones arcilla de los suelos y a adsorbentes modelos.

IV.3.2.1. Adsorción a las fracciones arcilla de los suelos.

En la Tabla IV.20 se dan los resultados de las pruebas de adsorción de ácido salicílico, ácido ftálico y picloram a las fracciones arcilla de los suelos Borris, Kettering, Askov y P2. Al tratarse de sistemas purificados los procesos biodegradativos no tuvieron incidencia, lo que permitió un estudio convencional de la adsorción.

Tabla IV.20. Porcentaje de adsorción y coeficientes de distribución (K_d) de los ácidos salicílico, ftálico y picloram a las fracciones arcilla de los suelos Borris, Kettering, Askov y P2. La relación sólido:disolución utilizada fue 50 mg de fracción arcilla:10 ml del ácido correspondiente a concentración 10 μ M en CaCl_2 0.01 M.

Fracción arcilla	Ácidos orgánicos					
	Picloram		Ácido ftálico		Ácido salicílico	
	Ads (%)	K_d (l/kg)	Ads (%)	K_d (l/kg)	Ads (%)	K_d (l/kg)
Borris	3 \pm 0 [†]	6 \pm 1	8 \pm 1	17 \pm 3	46 \pm 5	170 \pm 34
Askov	2 \pm 1	3 \pm 1	6 \pm 1	13 \pm 2	19 \pm 2	46 \pm 5
P2	1 \pm 0	2 \pm 1	0 \pm 0	0 \pm 0	40 \pm 1	136 \pm 8
Kettering	1 \pm 0	1 \pm 0	5 \pm 2	10 \pm 3	22 \pm 0	57 \pm 1

[†] Media \pm Error estándar

A la vista de estos resultados se puede afirmar que el ácido salicílico tiene una afinidad mucho más alta por las fracciones arcilla de los suelos que el ácido ftálico y picloram. El porcentaje adsorbido de ácido salicílico a las fracciones arcilla de los suelos va desde un 19 a un 46 %, mientras que para los ácidos ftálico y picloram no pasa de un 8 %. El picloram es el ácido que menos se adsorbe llegando como máximo a un 3 % en el caso de la fracción arcilla del Borris. Por todo ello, podemos establecer el siguiente orden en porcentaje de adsorción: ácido salicílico >> ácido ftálico > picloram. La alta afinidad del ácido salicílico por las fracciones arcilla de los suelos explica la rápida bajada de concentración durante las 10 primeras horas en las cinéticas de disipación con suelos.

Para comprender el mecanismo de adsorción del ácido salicílico, se correlacionaron los resultados obtenidos con las características de las fracciones arcilla de los distintos suelos (Tabla IV.2) no encontrándose ninguna correlación destacable. Ni siquiera con el contenido en óxidos de hierro que, teóricamente, debería ser uno de los componentes de la

fracción arcilla que participara más en la adsorción del ácido salicílico, al presentar cargas positivas a los pH habituales de los suelos.

Para profundizar en el mecanismo de adsorción del ácido salicílico a las fracciones arcilla se determinó la influencia de la fuerza iónica en la adsorción, comparando la adsorción de este ácido en agua destilada y CaCl_2 0.01 M. Los resultados obtenidos se expresan en la Tabla IV.21.

Como se puede ver, la presencia CaCl_2 en el medio no provoca una disminución en la adsorción de salicílico, sino más bien un ligero aumento, lo que nos sugiere que la unión de este ácido a las fracciones arcilla es una unión específica, no existiendo competencia entre los iones del medio y el ácido orgánico. Dubus *et al.* (2001) afirma que el ácido salicílico se adsorbe preferencialmente a los suelos por cambio de ligando con los grupos hidroxilos de las superficies de los óxidos y/o los filosilicatos. Esto está de acuerdo con nuestros resultados al ser el cambio de ligando un mecanismo específico de unión. Por el contrario, en el caso de otros ácidos orgánicos, sí se ha observado competencia con los iones del medio. Este es el caso del 2,4-D cuya adsorción a las superficies con carga positiva del suelo disminuye al aumentar la fuerza iónica del medio (Watson *et al.*, 1973).

Tabla IV.21. Porcentaje de adsorción y coeficiente de distribución (K_d) de ácido salicílico a las fracciones arcilla de los suelos Borris, Askov, P2 y Kettering en agua destilada y en CaCl_2 0.01 M. La relación sólido:disolución utilizada fue 50 mg de fracción arcilla:10 ml de disolución de ácido salicílico a concentración 10 μM .

Fracciones arcilla	% Adsorción			
	H_2O		CaCl_2 0.01 M	
	Ads (%)	K_d (l/kg)	Ads (%)	K_d (l/kg)
Borris	33 ± 9 [†]	103 ± 41	46 ± 5	170 ± 34
Askov	21 ± 1	53 ± 2	19 ± 2	46 ± 5
P2	27 ± 0	74 ± 1	40 ± 1	136 ± 8
Kettering	14 ± 0	31 ± 0	22 ± 0	57 ± 1

[†] Media ± Error estándar

IV.3.2.2. Adsorción a adsorbentes modelos.

Para evaluar el papel que juegan algunos de los principales componentes del suelo en la adsorción del ácido salicílico usamos adsorbentes modelos. Los resultados se muestran en la Tabla IV.22.

Tabla IV.22. Porcentaje de adsorción de ácido salicílico a los adsorbentes modelos simples, binarios y ternarios, y valores de superficie específica de los mismos.

SIMPLES			
	SW	Ferrih	AH
Ads (%)	25 ± 1	98 ± 2	0.8 ± 0
SE (m²/g)	25	346	<1
BINARIOS			
	SW-AH₀	SW-AH₄	SW-AH₈
Ads (%)	54 ± 2	28 ± 4	37 ± 0
SE (m²/g)	43	4	3
	SW-Ferrih₀	SW-Ferrih₈	SW-Ferrih₁₆
Ads (%)	61 ± 0	91 ± 0	94 ± 1
SE (m²/g)	25	58	83
	Ferrih-AH₀	Ferrih-AH₄	Ferrih-AH₈
Ads (%)	93 ± 0	96 ± 0	95 ± 1
SE (m²/g)	348	334	290
TERNARIOS			
	SW-Ferrih-AH₀	SW-Ferrih-AH₄	SW-Ferrih-AH₈
Ads (%)	90 ± 1	77 ± 0	69 ± 3
SE (m²/g)	82	57	32

Los resultados obtenidos en la adsorción de ácido salicílico a adsorbentes simples muestran que el componente del suelo por el que el ácido salicílico tiene una mayor afinidad es la ferrihidrita (Ferrih), adsorbiéndose en un 98%. Este porcentaje tan alto de adsorción se debe probablemente a las cargas positivas que tiene la superficie del óxido de hierro, lo cual permite la unión del ácido salicílico. Con un 25% de porcentaje de adsorción encontramos a la montmorillonita SW que, gracias a las cargas positivas de los bordes y probablemente a la presencia grupos hidroxilos superficiales, es capaz de formar enlaces con el ácido salicílico (Kubicki *et al.*, 1997; Dubus *et al.*, 2001; Cecchi *et al.*, 2004). Por

último, encontramos el ácido húmico (AH) que, al tener una carga negativa generalizada aportada por todos los grupos funcionales carboxílicos y fenólicos, no parece tener una gran afinidad por el ácido salicílico.

A la vista de estos resultados puede concluirse que el componente del suelo más importante en la adsorción de ácido salicílico es el óxido de hierro. Observando las tablas de los adsorbentes binarios y ternarios se puede corroborar esta afirmación, ya que todos aquellos adsorbentes que tienen Ferrih presentan una adsorción mayor que los que carecen de ella. Quizás, el ejemplo más claro de la influencia de la Ferrih en la adsorción de salicílico lo tenemos en el adsorbente binario SW-Fe, donde se pasa de un 61% de adsorción a un 91 y 94% con la presencia de Ferrih. Esto corrobora los resultados de Dubus *et al.* (2001), quienes encontraron que los óxidos estaban involucrados en la adsorción del ácido salicílico a algunos suelos, y propusieron que esta adsorción se lleva a cabo por cambio de ligando con los grupos hidroxilos de las superficies de los óxidos y, en menor medida, por cambio iónica.

Otro factor que parece estar relacionado con la adsorción del ácido salicílico a los adsorbentes modelos es la superficie específica medida por adsorción de N_2 ($SE(N_2)$), de tal manera que al aumentar ésta aumenta la adsorción de ácido salicílico (Tabla IV.22). Podemos ver que en los adsorbentes modelos simples el adsorbente con mayor superficie específica es la Ferrih con $346 \text{ m}^2/\text{g}$, presentando una adsorción de un 98%, seguido de SW con $25 \text{ m}^2/\text{g}$ y una adsorción de un 25% y, por último, el AH con $<1 \text{ m}^2/\text{g}$ y una adsorción de 0.8%. En los adsorbentes binarios también se da esta tendencia; en el adsorbente binario SW-AH, la presencia de AH disminuye la superficie específica y la adsorción de ácido salicílico. Parece ser que el AH cubre la superficie expuesta por la montmorillonita disminuyendo su SE y su capacidad para adsorber ácido salicílico, pasando de un 54% para SW-AH₀ ($SE= 43 \text{ m}^2/\text{g}$) a un 28 y 37% para SWA-H₄ ($SE= 4 \text{ m}^2/\text{g}$) y SW-AH₈ ($SE= 3 \text{ m}^2/\text{g}$) respectivamente. Para los adsorbentes modelos SW-Fe también se cumple la misma tendencia, pasando de una adsorción de 61% para una SE de $25 \text{ m}^2/\text{g}$ en el caso del SW-Fe₀, a una adsorción de 94% para una SE de $83 \text{ m}^2/\text{g}$ en el caso de SW-Fe₁₆. En el caso de los adsorbentes modelos Fe-AH todos ellos tienen una alta superficie específica y una alta adsorción de ácido salicílico. Las superficies específicas son $348 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ para Fe-AH₀, $334 \text{ m}^2/\text{g}$ para Fe-AH₄ y $290 \text{ m}^2/\text{g}$ para Fe-AH₈, que disminuyen ligeramente con el aumento de AH, pero aquí el AH no cubre con tanta efectividad la superficie de la Ferrih como en el caso de SW-AH, lo que permite las altas adsorciones de ácido salicílico. En el caso de los adsorbentes modelos ternarios la tendencia es la misma que hemos

descrito anteriormente, al aumentar el AH disminuye la SE, disminuyendo la adsorción de ácido salicílico.

IV.3.3. Estudios de movilidad en columnas.

En la Figura IV.28 se representan las curvas de elución de los ácidos orgánicos obtenidas en las pruebas de movilidad, con los suelos Borris, Kettering, Askov y P2.

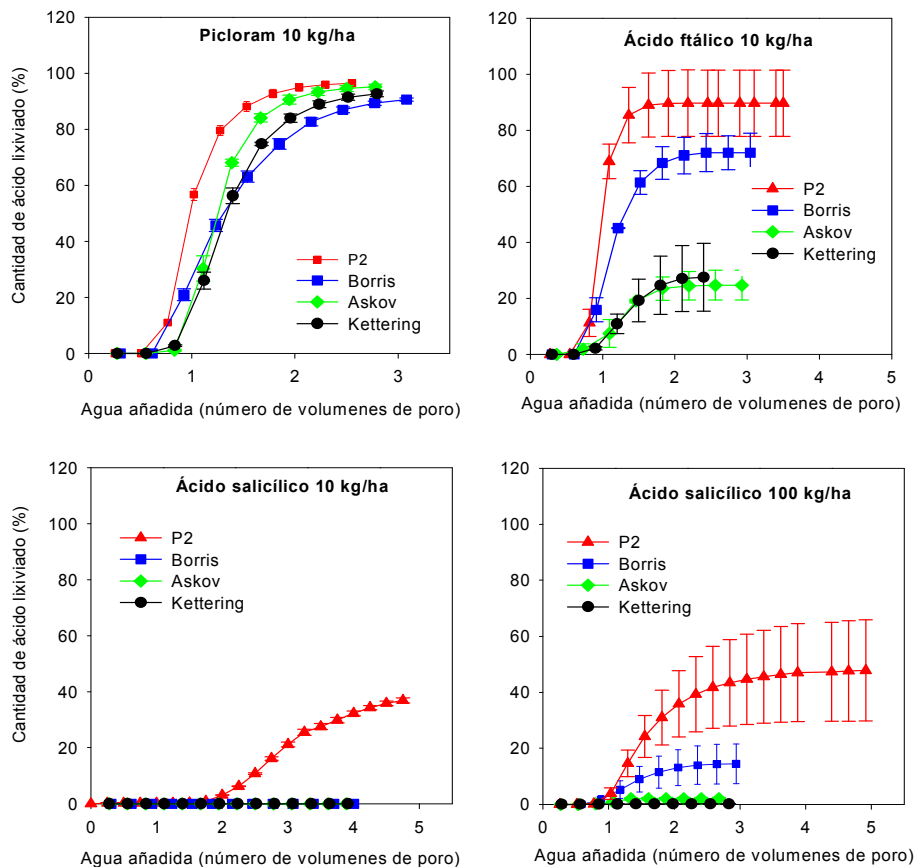


Figura IV.28. Curvas de lixiviación acumuladas de los ácidos salicílico, ftálico y picloram en los suelos P2, Borris, Askov y Kettering a una dosis de aplicación de 10 kg/ha. También se representa la curva acumulada de lixiviación para el ácido salicílico a una dosis de aplicación de 100 kg/ha.

El picloram tiene un comportamiento similar en los cuatro suelos seleccionados para el estudio. Su lixiviación es rápida y próxima al 100% debido a su baja adsorción y alta persistencia, como hemos visto en los experimentos anteriores.

El ácido ftálico tiene 2 comportamientos diferentes según el tipo de suelo. Por un lado, en los suelos Kettering y Askov, la lixiviación es baja, no pasando del 30% mientras que en los suelos P2 y Borris la lixiviación es mayor, siendo superior al 60% en ambos casos y llegando incluso a un 90 % en el caso del P2. Teniendo en cuenta que el ácido ftálico presenta una baja adsorción a los 4 suelos y que los estudios cinéticos no revelaron grandes diferencias en la persistencia del compuesto en los mismos, las diferencias en la lixiviación podrían estar relacionadas con las distribuciones de tamaño de poros de los suelos (Figura IV.2). Los suelos Askov y Kettering se caracterizan por presentar gran número de poros de pequeño tamaño, lo que hace que el paso del ácido ftálico sea más lento que en los suelos P2 y Borris, permitiendo así la actuación de los procesos de adsorción y degradación durante más tiempo. En las extracciones de las columnas de suelos no se encontró cantidad alguna de ácido ftálico. Esto nos lleva a suponer que, dada la baja adsorción de este compuesto, la desaparición de dicha sustancia es debida, sobre todo, a su degradación. La alta lixiviación (90%) del ácido ftálico en las columnas del suelo P2 podemos explicarlo, además de por su porosidad, por su bajo contenido en materia orgánica que hace prever que su actividad microbiana sea menor que la del resto de los suelos. En un estudio reciente, Evans (1998) vio como el ácido ftálico era biodegradado de manera particularmente lenta en suelos con bajos contenidos en materia orgánica.

La lixiviación del ácido salicílico es la menor de los tres ácidos. Sólo en el suelo P2 se apreció lixiviación de ácido salicílico, llegando a un 36%. El hecho de que este ácido sólo lixivie en el suelo P2 podemos explicarlo por una combinación de existencia de poros de gran tamaño, que hacen que la molécula pase rápidamente afectándole en menor medida los procesos de adsorción y degradación, y por el bajo contenido de materia orgánica lo que hace que la degradación sea menor.

Teniendo en cuenta las escalas de tiempo utilizadas en los experimentos de disipación (Figura IV.25) y lixiviación (Figura IV.28), podemos ver que la persistencia de los ácidos orgánicos bajo las condiciones de los experimentos de lixiviación es mayor que las que se dieron bajo los experimentos de disipación. Una posible explicación a dicho comportamiento sería el bajo contenido en agua y/o las condiciones dinámicas del experimento de lixiviación. Podríamos suponer, entonces, que la persistencia de los ácidos orgánicos durante el proceso de lixiviación en suelos va a ser mayor que la esperada por los experimentos de disipación. Evans (1998) llegó a la misma conclusión en los experimentos que realizó con ácido ftálico, donde observó una mayor mineralización bajo condiciones de matraz biométrico que bajo condiciones de columnas y campo.

Es interesante destacar la diferencia en la posición del punto de inflexión en las curvas de lixiviación. Mientras que en el caso de los ácidos ftálico y picloram este punto de inflexión se encuentra aproximadamente a 1 volumen de poro, lo que indica una retención mínima de estas sustancias por parte del suelo y que los ácidos avanzan con el frente de agua, en el caso de ácido salicílico a dosis de 10 kg/ha en el suelo P2 el punto de inflexión está entre 2 y 3 volúmenes de poro, indicando una cierta retención durante la percolación del ácido salicílico a través del suelo. Esta diferencia la podemos explicar por la capacidad que tiene el ácido salicílico de adsorberse a las partículas del suelo, lo que hace que su paso a través del mismo sea más lento que el del resto de los ácidos.

Al aumentar la dosis de aplicación de salicílico de 10 kg/ha a 100 kg/ha se observó un aumento del porcentaje de lixiviación a los cuatro suelos. Se vio la misma tendencia descrita para el ácido ftálico, es decir, Askov y Kettering son los suelos que menores porcentajes de lixiviación presentan, mientras que Borris y, sobre todo, P2 son los que más lixivian. Este aumento de lixiviación está de acuerdo con los resultados de los experimentos de cinética a concentración 1 mM, donde se vio que al aumentar la concentración, aumentaba también el porcentaje de ácido salicílico en la disolución. De manera similar, al aumentar la dosis de ácido salicílico en las columnas cabe esperar un aumento de la concentración en la fase líquida y, por tanto, un aumento de la lixiviación.

En la Figura IV.29, se han representado las curvas de lixiviación de ácido salicílico, ácido ftálico y picloram agrupados para cada uno de los cuatro suelos cuestión de estudio. En todos los suelos, la tendencia del porcentaje lixiviado es la misma: el picloram es el ácido que más lixivía en todos los suelos con porcentajes cercanos al 100%, el segundo en porcentaje de lixiviación es el ácido ftálico, con un porcentaje bastante variable que va desde un 90% para el suelo P2 a un 25% para el suelo Askov y, por último, está el porcentaje del ácido salicílico que sólo lixivía en el suelo P2 con un porcentaje de un 37%.

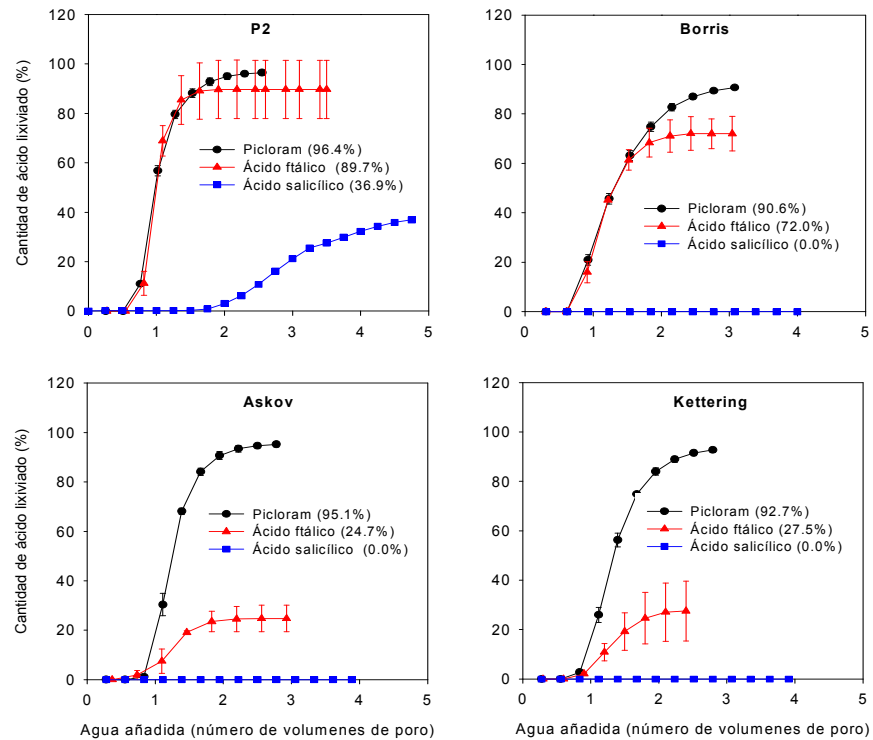


Figura IV.29. Curvas de lixiviación acumuladas de los ácidos picloram, ftálico y salicílico en los suelos P2, Borris, Askov y Kettering a una dosis de aplicación de 10 kg/ha. Los porcentajes lixiviados de cada compuesto para cada suelo se indican entre paréntesis.

IV.3.4. Estudio de toxicidad.

Para ilustrar el efecto tóxico que pueden tener algunos ácidos orgánicos en el suelo, se llevó a cabo un estudio de toxicidad con macetas de suelo P2 a las que se aplicó ácido salicílico inmediatamente después de la siembra de 15 semillas de berro (*Lepidium sativum*). En la Figura IV.30 se observa el efecto inhibitorio del ácido salicílico una semana después de la aplicación. En la maceta control ha tenido lugar un desarrollo normal del berro, sin embargo, en las macetas donde se aplicó las dosis de 200 y 1000 mg kg⁻¹ de ácido salicílico no hubo crecimiento de dicha planta.



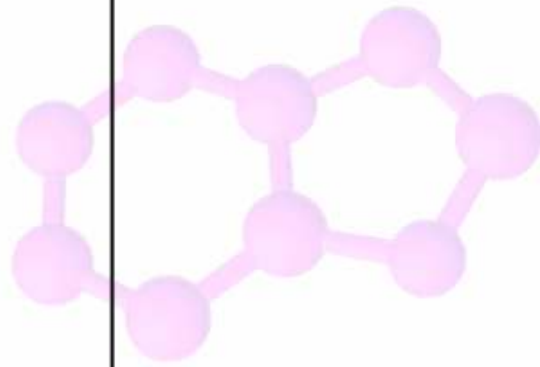
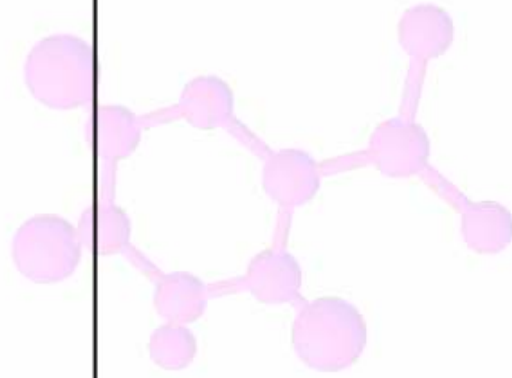
Figura IV.30. Influencia de la adición de ácido salicílico en dosis de 200 y 1000 mg/kg sobre la germinación de plantas de berro (*Lepidium sativum*). Estado de las macetas 1 semana después de la siembra y aplicación del ácido.

Expresamos numéricamente el efecto del ácido salicílico sobre el berro tras 4 semanas tras la aplicación en la Tabla IV.23. Se comprueba que ha habido un retraso en el crecimiento del berro relacionado con la dosis de ácido salicílico aplicado. Los resultados de la Tabla IV.23 se presentan tanto por número de plantas como por peso de las mismas.

Tabla IV.23. Influencia de la adición de ácido salicílico en dosis de 200 y 1000 mg/kg sobre el número y peso de plantas de berro 4 semanas después de la siembra y aplicación del ácido.

Muestras	Número de plantas	Peso de plantas (g)
Control	7 ± 0	0.32 ± 0.05
200 mg/kg	3 ± 1	0.08 ± 0.07
1000 mg/kg	0 ± 0	0 ± 0

Podemos concluir que el ácido salicílico provoca una inhibición sobre el crecimiento de las plantas de berro, lo que pone de manifiesto su posible efecto tóxico en el medio ambiente sobre organismos vivos.



V. Conclusiones.

Los experimentos llevados a cabo en este trabajo con hidrocarburos aromáticos policíclicos sustituidos permiten establecer las siguientes conclusiones:

1. Los resultados de adsorción de benzofurano, dibenzofurano y acridina a los suelos, sus fracciones arcilla y adsorbentes modelos revelan que la adsorción de estos compuestos orgánicos viene determinada por el número de anillos de la molécula y por la presencia y naturaleza del heteroátomo de la misma.
2. Los factores que determinan la adsorción de benzofurano y dibenzofurano en los suelos parecen ser similares a los que determinan la adsorción de hidrocarburos aromáticos policíclicos no sustituidos, como el fenantreno. Dicha adsorción es compatible con interacciones inespecíficas, mayoritariamente reversibles, existiendo una relación inversa entre la adsorción y la solubilidad en agua del compuesto. Por el contrario, el carácter ionizable de la acridina le confiere propiedades adsorptivas diferentes, presentando una adsorción más elevada de la que podría esperarse a partir de su solubilidad en agua así como una considerable resistencia a la desorción.
3. Los experimentos de adsorción a las fracciones arcilla y adsorbentes modelos indican que la materia orgánica es el componente del suelo que más contribuye a la adsorción de benzofurano y dibenzofurano. No obstante, cuando el contenido en carbono orgánico es bajo o moderado, como ocurre para la mayoría de los suelos utilizados en este estudio, las correlaciones simples adsorción-contenido en carbono orgánico resultan ser débiles y la influencia de otros factores en la adsorción se hace más evidente. Entre estos factores destacan el pH y el contenido en arcilla, cuya asociación a la materia orgánica puede reducir considerablemente la capacidad adsorbente de ésta. En el caso de la acridina, además de la materia orgánica, los filosilicatos pueden contribuir significativamente a su elevada adsorción, especialmente cuando el pH se aproxima al pK_a del compuesto.
4. Los resultados de los experimentos de incubación en suelos mostraron dos comportamientos diferentes. Las curvas de disipación de benzofurano se ajustan a una cinética de primer orden, pudiendo contribuir su alta presión de vapor a dicho tipo de cinética. Dibenzofurano y acridina presentan curvas de disipación tipo sigmoideal, típicas de compuestos usados como sustrato de crecimiento de microorganismos.

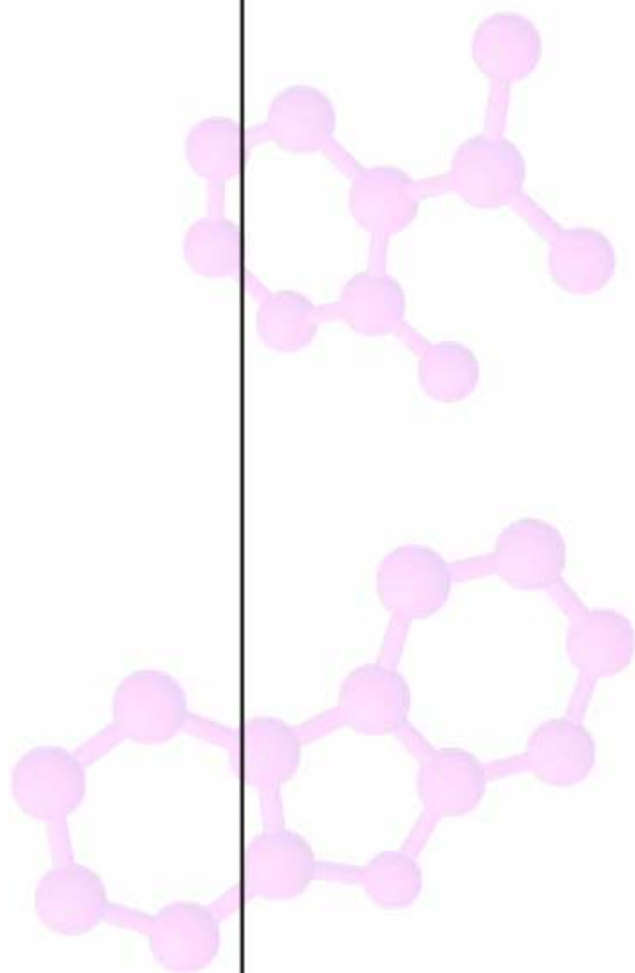
5. Los tiempos necesarios para una reducción del 50% en la concentración del compuesto orgánico en los suelos estudiados oscilan entre 2 y más de 54 días, dependiendo del compuesto y tipo de suelo. La persistencia de los compuestos puede aumentar considerablemente al disminuir la temperatura y al aumentar su concentración inicial en el suelo.
6. En los estudios de lixiviación en columnas empaquetadas a mano sólo se detectaron cantidades destacables de compuesto en los lixiviados en el caso de benzofurano, siendo las cantidades lixivadas de dibenzofurano y acridina inferiores al 0.05% de lo aplicado. La distribución de los compuestos a lo largo del perfil de la columna reveló una relación inversa entre la lixiviación de los compuestos y su adsorción a los suelos.
7. La presencia de materia orgánica disuelta y la estructura del suelo influyen en la lixiviación de los hetero-PAHs. El efecto de la materia orgánica disuelta es complejo, ya que puede incrementar o reducir la lixiviación dependiendo de la naturaleza del compuesto y de las características del suelo. En cuanto a la estructura del suelo, la lixiviación a través de macroporos puede constituir un mecanismo dominante en el transporte de hetero-PAHs poco móviles, como el dibenzofurano, a través del perfil del suelo.
8. Los bioensayos realizados con plantas de berro (*Lepidium sativum*) revelaron un efecto inhibitor por parte de acridina, dibenzofurano y, en menor medida, benzofurano en el crecimiento de la planta, lo que ilustra el posible efecto tóxico de este tipo de compuestos sobre organismos vivos.

En el caso de los ácidos aromáticos de bajo peso molecular, las principales conclusiones derivadas de los experimentos son:

1. En suspensiones suelo-agua, los ácidos los ácidos ftálico y salicílico presentan una vida media corta en comparación con los hidrocarburos aromáticos policíclicos sustituidos y con otros ácidos orgánicos de conocida persistencia como el herbicida picloram.
2. De los tres ácidos aromáticos estudiados, sólo el ácido salicílico presentó una adsorción destacable a los suelos y sus componentes, mientras que para el ácido

ftálico y el picloram fue muy pequeña o nula. La estructura química del ácido aromático, por tanto, determina en gran medida su afinidad por los componentes del suelo y el grado de adsorción.

3. Las superficies con carga positiva de los filosilicatos y los óxidos metálicos parecen contribuir mayoritariamente a la adsorción del ácido salicílico, si bien el papel de dichas superficies en la adsorción puede verse oscurecido por los procesos de interasociación con otros componentes de los suelos.
4. El riesgo de lixiviación de los ácidos aromáticos esta directamente relacionado con la persistencia del compuesto. No obstante, a pesar de su corta persistencia en suspensiones suelo-agua, se detectaron cantidades significativas de los ácidos ftálico y salicílico en los lixiviados de las columnas empaquetadas a mano, lo que indica que la persistencia de los ácidos bajo condiciones de lixiviación en columnas podría ser mayor que la encontrada en suspensiones suelo-agua, dando como resultado un mayor riesgo de lixiviación. La presencia de macroporos y la concentración inicial de compuesto determinan en gran medida el proceso de lixiviación de los ácidos aromáticos.
5. En los ensayos de fitotoxicidad, se observó un claro efecto tóxico por parte del ácido salicílico sobre plantas de berro (*Lepidium sativum*), poniendo así de manifiesto su posible toxicidad en medios naturales.



VI. Bibliografía.

- Ahmad, R., Kookana, R. S., Alston, A. M., Skjemstad, J. O., 2001.** The nature of soil organic matter affects sorption of pesticides. 1. Relationships with carbon chemistry as determined by ¹³C PMAS NMR spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.* 35, 878-889.
- Ainsworth, C. C., Zachara, J. M., Schmidt, R. L., 1987.** Quinoline sorption on Namontmorillonite: Contributions of the protonated and neutral species. *Clays Clay Miner.* 35, 121-128.
- Albarrán, A., Celis, R., Hermosín, M. C., López-Piñeiro, A., Ortega-Calvo, J. J., Cornejo, J., 2003.** Effects of solid olive-mill waste addition to soil on sorption, degradation and leaching of the herbicide simazine. *Soil Use Manage.* 19, 150-156.
- Alexander, M., 2000.** Aging, bioavailability, and overestimation of risk from environmental pollutants. *Environ. Sci. Technol.* 34, 4259-4265.
- Arcangeli, J. P., Arvin, E., 1995.** Biodegradation rates of aromatic contaminants in biofilm reactors. *Water Sci. Technol.* 31, 117-128.
- Armstrong, D. E. Y Konrad, J. G., 1974.** Nonbiological degradation of pesticides. En: Pesticides in Soil and Water. (Guenzi W. D. Ed.) SSSA, Madison, WI. pp. 3-33.
- Aryal, R. K., Furumai, H., Nakajima, F., Boller, M., 2006.** Characteristics of particle-associated PAHs in a first flush of a highway runoff. *Water Sci. Technol.* 53, 245-251.
- Auer, L. H., Rosenberg, N. D., Birdsell, K. H., Whitney, E. M., 1996.** The effects of barometric pumping on contaminant transport. *J. Contam. Hydrol.* 24, 145-166.
- Backhus, D. A., Ryan, J. N., Groher, D. M., 1993.** Sampling colloids and colloid-associated contaminants in ground water. *Ground Water.* 31, 466-479.
- Banerjee, K., Oulkar, D. P., Patil, S. H., Dasgupta, S., Adsule, P. G., 2008.** Degradation kinetics and safety evaluation of tetraconazole and difenoconazole residues in grape. *Pest Manag. Sci.* 64, 283-289.
- Barriuso, E., Laird, D. A., Koskinen, W. C., Dowdy, R. H., 1994.** Atrazine desorption from smectites. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 58, 1632-1638.

- Batterman, S., Padmanabham, I., Milne, P., 1996.** Effective gas-phase diffusion coefficients in soils at varying water content measured using a one-flow sorbent-based technique. *Environ. Sci. Technol.* 30, 770-778.
- Beigel, C., Charnay, M.-P., Barriuso, E., 1999.** Degradation of formulated and unformulated triticonazol fungicide in soil: Effect of application rate. *Soil Biol. Biochem.* 31, 525-534.
- Bergstöm, L., 1990a.** Leaching of chlorosulfuron and metsulfuron methyl in three Swedish soils measured in field lysimeters. *J. Environ. Qual.* 19, 701-706.
- Bergstöm, L., 1990b.** Leaching of dichlorprop in sand and clay soils measured in field lysimeters. *Swedish J. Agric. Res.* 20, 115-119.
- Bi, E., Schmidt, T. C., Haderlein, S. B., 2006.** Sorption of heterocyclic organic compounds to reference soil: column studies for process identification. *Environ. Sci. Technol.* 40, 5962-5970.
- Bogolte, B. T., Ehlers, G. A. C., Braun, R., Loibner, A. P., 2007.** Estimation of PAH bioavailability to *Lepidium sativum* using sequential supercritical fluid extraction – a case study with industrial contaminated soils. *Eur. J. Soil Biol.* 43, 242-250.
- Borchardt, D., Sperling, F., 1997.** Urban stormwater discharges: ecological effects on receiving waters and consequences for technical measures. *Water Sci. Technol.* 36, 173-178.
- Bosma, T. N. P., Middeldorp, P. J. M., Schraa, G., Zender, A. J. B., 1997.** Mass transfer limitation of biotransformation: quantifying bioavailability. *Environ. Sci. Technol.* 31, 248-252.
- Brinch, U. C., Ekelund, F., Jacobsen, C. S., 2002.** Method for spiking soil samples with organic compounds. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:1808-1816.
- Bris, F. J., Garnaud, S., Apperry, N., González, A., Mouchel, J. M., Chebbo, G., Thévenot, D. R., 1999.** A street deposit sampling method for metal and hydrocarbon contamination assessment. *Sci. Total Environ.* 235, 211-220.

- Broholm, M. M., Broholm, K., Arvin, E., 1999.** Sorption of heterocyclic compounds on natural clayey till. *Journal of Contamination Hydrology*. 39,183-200.
- Brown, G., 1961.** The X-ray Identification and Crystal Structures of Clay Minerals. Mineralogical Society, London.
- Brunauer S., Emmett P.H., Teller, K.G., 1988.** Adsorption of gases in multimolecular layers. *J. Am. Chem. Soc.* 60, 309-319.
- Buehler, S. S., Basu, I., Hites, R. A., 2001.** A comparison of PAH, PCB, and pesticide concentrations in air at two rural sites on Lake Superior. *Environ. Sci. Technol.* 35, 2417-2422.
- Bury, S. J., Miler, C. A., 1993.** Effect of micellar solubilization on biodegradation rates of hydrocarbons. *Environ. Sci. Technol.* 27, 104-110.
- Calvet, R., 1989.** Adsorption of organic chemical. *Environ. Health Perspect.* 83, 145-177.
- Carmo, A. M., Hundal, L. S., Thompson, M. L., 2000.** Sorption of hydrophobic organic compounds by soil materials: application of unit equivalent Freundlich coefficients. *Environ. Sci. Technol.* 34, 4363-4369.
- Cecchi, A. M., Koskinen W. C., Cheng, H. H., Haider, K., 2004.** Sorption-desorption of phenolic acids as affected by soil properties. *Biology and Fertility of Soils*. 39, 235-242.
- Celis, R., Cox, L., Hermosín, M.C. y Cornejo, J., 1997.** Sorption of thiazulfuron by iron and humic acid-coated montmorillonite. *J. Environ. Qual.* 26, 472-479.
- Celis, R., Cornejo J., Hermosín, M. C., Koskinen, W. C., 1998a.** Sorption of atrazine and simazine by model associations of soil colloids. *Soil Sci. Soc. Am J.* 62, 165-171.
- Celis, R., Cornejo J., Hermosín, M. C., 1998b.** Textural properties of synthetic clay-ferrihydrite associations. *Clays Clay Min.* 33, 395-407.
- Celis, R., Barriuso, E., Houot, S., 1998c.** Sorption and desorption of atrazine by sludge-amended soil: Dissolved organic matter effects. *J. Environ. Qual.* 27, 1348-1356.

Celis, R., Hermosín, M. C., Cox, L., Cornejo, J., 1999. Sorption of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid by model particles simulating naturally occurring soil colloids. *Environ. Sci. Technol.* 33, 1200-1206.

Celis, R., Koskinen, W. C. 1999. Characterization of pesticide desorption from soil by the isotopic exchange technique. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63, 1659-1666.

Celis, R., de Jonge, H., de Jonge, L. W., Real, M., Hermosín, M. C., Cornejo, J., 2006. The role of mineral and organic components in phenanthrene and dibenzofuran sorption by soil. *Eur. J. Soil Sci.* 57, 308-319.

Cerniglia C.E., 1991. Biodegradation of organic contaminants in sediments: overview and examples with polycyclic aromatic hydrocarbons. En: *Organic Substances and Sediments in Water*. Vol. 3. pp. 267-281. Lewis Publishers.

Chiou, C. T., Malcolm, R. L., Brinton, T. I., Kile, D. E., 1986. Water solubility enhancement of some organic pollutants and pesticides by dissolved humic and fulvic acids. *Environ. Sci. Technol.* 20, 502-508.

Chiou, C. T., Kile, D. E., 1994. Effects of polar and nonpolar groups on the solubility of organic compounds in soil organic matter. *Environ. Sci. Technol.* 28, 1139-1144.

Chiou, C. T., 2002. Partition and Adsorption of Organic Contaminants in Environmental Systems. John Wiley & Sons: New York, 2002.

Choi, J.-W., Tillman, F. D., Smith, J. A., 2002. Relative importance of gas-phase diffusive and advective trichloroethene (TCE) fluxes in the unsaturated zone under natural conditions. *Environ. Sci. Technol.* 36, 3157-3164.

Choi, J.-W., Smith, J. A., 2005. Geoenvironmental factors affecting organic vapor advection and diffusion fluxes from the unsaturated zone to the atmosphere under natural conditions. *Environ. Eng. Sci.* 22, 95-108.

Christiansen, J. S., Thorsen, M., Clausen, T., Hansen, S., Refsgaard, J.C., 2004. Modelling of macropore flow and transport process at catchment scale. *J. Hydrology.* 299, 136-158.

Cornejo, J., Hermosín, M. C., 1996. Interaction of humic substances and clays. p. 595-634. En A. Piccolo (ed.) *Humic Substances in Terrestrial Ecosystems*. Elsevier, Amsterdam.

Cortes, D. R., Basu, I., Sweet, C. W., Brice, K. A., Hoff, R. M., Hites, R. A., 1998. Temporal trends in gas-phase concentrations of chlorinated pesticides measured at the shores of Great Lakes. *Environ. Sci. Technol.* 32, 1920-1927.

Cox, L., Celis, R., Hermosín, M. C., Cornejo, J., Zsolnay, A., Zeller, K., 2000. Effect of organic amendments on herbicide sorption as related to the nature of the dissolved organic matter. *Environ. Sci. Technol.* 34, 4600-4605.

Cox, L., Cecchi, A., Celis, R., Hermosin, M. C., Koskinen, W. C., Cornejo, J., 2001. Effect of exogenous carbon on movement of simazine and 2,4-D in soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 65, 1688-1695.

Cruz-Guzmán, M., 2004. Estudio de Coloides Naturales y Modificados como Adsorbentes para la Reducción de la Contaminación de Suelos y Aguas. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla.

Cruz-Guzmán, M., Celis, R., Hermosín, M. C., Leone, P., Nègre, M., Cornejo, J., 2003. Sorption-desorption of lead(II) and mercury(II) by model associations of soil colloids. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 67, 1378-1387.

Dagnac, T., Jeannot, R., Mouvet, C., Baran, N., 2001. Identification of oxanilic and sulfonic acid metabolites of chloroacetanilides in surface water and groundwaters by LC-ESI/MS. En: 2nd International Symposium Pesticides in Food and the Environment in Mediterranean Countries. 103.

De Jonge, H., Mittelmeijer-Hazeleger, M.C., 1996. Adsorption of CO₂ and N₂ on soil organic matter: nature of porosity, surface area, and diffusion mechanisms. *Environ. Sci. Technol.* 30, 408-413.

De Jonge, H., Jacobsen, O. H., Moldrup, P., Larsen, C., Konnerup, L., Petersen, L.W., 1997. Particle transport in macropores of undisturbed soil columns. *J. Hydrol.* 196, 185-203.

De Jonge, H., Jacobsen, O. H., de Jonge, L. W., Moldrup, P., 1998. Particle-facilitated transport of Prochloraz in undisturbed soil columns. *J. Environ. Qual.* 27, 1495-1503..

De Jonge, L. W., Moldrup, P., de Jonge, H., Celis, R., 2008. Sorption and leaching of short-term-aged PAHs in eight european soils: link to physicochemical properties and leaching of dissolved organic carbon. *Soil Sci.* 173, 13-24.

Di Gennaro, P., Rescalli, E., Galli, E., Sello, G., Bestetti, G., 2001. Characterization of *Rhodococcus opacus* R7, a strain able to degrade naphthalene and o-xylene isolated from a polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated soil. *Microbiology.* 152, 641-651.

Dohse, D. M., Lion, L. W., 1994. Effect of microbial polymers on the sorption and transport of phenantrene in a low-carbon sand. *Environ. Sci. Technol.* 28, 541-548.

Dubus, I. G., Barriuso E., Clavet R., 2001. Sorption of weak organic acids in soils: Clofencet, 2,4-D and salicylic acid. *Chemosphere.* 45, 767-774.

Dyreborg, S., Arvin, E., Broholm, K., 1996. The influence of creosote compounds on the aerobic degradation of toluene. *Biodegradation.* 6, 97-107.

Eberhardt, C. y Grathwohl, P., 2002. Times scales of organic contaminant dissolution from complex sources zones: coal tar pools vs. Blobs. *J. Contaminant Hydrol.* 59, 45-66.

Elberling, B., Larsen, F., Christensen, S., Postma, D., 1998. Gas transport in a confined unsaturated zone during atmospheric pressure cycles. *Water Resour. Res.* 34, 2855-2862.

Enell, A., Reinchenberg, F., Ewald, G., Warfvinge, P., 2005. Desorption kinetics studies on PAH-contaminated soil under varying temperatures. *Chemosphere.* 61, 1529-1538.

EPA US Environmental Protection Agency EPI v3.10 software.
<http://www.epa.gov/opptintr/exposure/docs/episuite.htm>.

Evans, A., 1998. Biodegradation of C-14-labeled low molecular weight organic acids using three biometer methods. *J. of Geochemical Exploration.* 65, 17-25.

Fall, C., Chaouki, J., Chavarie, C., Elena-Ortega, R., 2003. Multivariate study on phenanthrene sorption in soils. *J. Environ. Engineering-ASCE*. 129, 1030-1040.

Fergusson, J. E., Ryan, D. E., 1984. The elemental composition of street dust from large and small urban areas related to city type, source and particle size. *Sci. Total Environ.* 34, 101-116.

Fusi, P., Arfaioli, Calamai L., Bosetto M., 1993. Interactions of two acetanilide herbicides with clay surfaces modified with Fe(III) oxyhydroxides and hexadecyltrimethyl ammonium. *Chemosphere* 27, 765-771.

Gan, J., Koskinen, W. C., Becker, R. L., Buhler, D. D., 1995. Effect of concentration of persistence of alachlor in soil. *J. Environ. Qual.* 24, 1162-1169.

Gee, G. W., Bauder, J. W. 1982. Particle-size analysis. En: *Methods of Soil Analysis: Part 1, Physical and Mineralogical Methods*, 2nd edn (edn A. Klute), pp. 383-441. Agronomy Monograph No 9, American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison, WI.

Gehring, M. M., Kewada, V., Coates, N., Downing, T. G., 2003. The use of *Lepidium sativum* in a plant bioassay system for the detection of microcystin-LR. *Toxicol.* 41, 871-876.

Gerber, H. R., Ziegler, P. Y Dubach, P., 1970. Leaching as a tool in the evaluation of herbicides. *Proc. Br. Weed Control Conf.* 10, 118-125.

Gesell, M., Hammer, E., Mikolasch, A., Schauer, F., 2004. Oxidation and ring cleavage of dibenzofuran by the filamentous fungus *Paecilomyces lilacinus*. *Arch. Microbiol.* 182, 51-59.

Ghosh, U., Zimmerman, J. R., Luthy, R. G., 2003. PCB and PAH speciation among particle types in contaminated harbor sediments and effects on PAH bioavailability. *Environ. Sci. Technol.* 37, 2209-2217.

Giles, C. H., MacEwan, S. N., Nakhwa, S. N., Smith, D., 1960. Studies in adsorption. Part XI. A system of classification of solution adsorption isotherms, and its use in diagnosis of adsorption mechanisms and in measurement of specific surface area in solids. *J. Chem. Soc.* 3, 3973-3993.

- Govindaraju, R. S., Reddi, L. N., Kasavaraju, S. K., 1995.** A physically based model for mobilization of kaolinite particles under hydraulic gradients. *J. Hydrol.* 172, 331-350.
- Grathwohl, P., 1990.** Influence of organic matter from soil and sediments from various origins on the sorption of some chlorinated aliphatic hydrocarbons: Implications on Koc correlations. *Environ. Sci. Technol.* 24, 1687-1693.
- Green, R. E., Karickhoff, S. W., 1990.** Sorption estimates for modelling. En: Cheng, H. H. (Ed), *Pesticides in the Soil Environment: Processes, Impacts and Modelling.* Soil Science Society of America, Madison, WI, pp. 79-101.
- Grimer, G., Duval, D., 1970.** Endogenous formation of polycyclic hydrocarbons in higher plants. 8. Carcinogenic hydrocarbons in the environment of humans. *Z. Naturforsch.* 25, 1171.
- Guerin, W. F., Boyd, S., 1992.** Differential bioavailability of soil-sorbed naphthalene to two bacterial species. *Appl. Environ. Microb.* 58, 1142-1152.
- Gustafson, D. J., 1989.** Groundwater ubiquity score: A simple method for assessing pesticide leachability. *Environ. Sci. Technol.* 8, 339-357.
- Hamaker, J. W., Thompson, J. M., 1972.** Adsorption. En: *Organic Chemicals in the Soil Environment, Volumen 1* (eds C.A.I. Goring & J. W. Hamaker), pp. 49-143. Marcel Dekker, New York.
- Hance, R. J., 1967.** The speed of attainment of sorption equilibria in some systems involving herbicides. *Weed Res.* 7, 29-36.
- Harms, H., Bosma, T. N. P., 1997.** Mass transfer limitation of microbial growth and pollutant degradation. *J. Ind. Microbiol.* 18, 97-105.
- Hase, A., Hites, R. A., 1976.** On the origin of polycyclic aromatic hydrocarbons in recent sediments: Biosynthesis by anaerobic bacteria. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 40, 1141.
- Helling, C. S., Turner, B. C., 1968.** Pesticides mobility determination by soil thin layer chromatography. *Science.* 162, 562-563.

- Hoff, R. M., Brice, K. A., Halsall, C. J., 1998.** Nonlinearity in the slopes of Clausius-Clapeyron plots for SVOCs. *Environ. Sci. Technol.* 32, 1793-1798.
- Hoffman, E., Mills, G., Latimer, J. S., Quinn, J. G., 1984.** Urban runoff as a source of polycyclic aromatic hydrocarbons to coastal waters. *Environ. Sci. Technol.* 18, 580-587.
- Holoubek, I., Korínek, P., Šeda, Z., Schneiderová, E., Holoubková, I., Pacl, A., Tríska, J., Cudlín, P., Čáslavský, J., 2000.** The use of mosses and pine needles to detect persistent organic pollutants at local and regional scales. *Environ. Pollution.* 109, 283-292.
- Hong H.B., Chang Y.S., Choi S.D., Park Y.H., 2000.** Degradation of dibenzofuran by *Pseudomonas putida* PH-01. *Water Res.* 34, 2404-2407.
- Hong, H. B., Nam, I. H., Murugesan, K., Kim, Y. M., Chang, Y. S., 2004.** Biodegradation of dibenzo-p-dioxin, dibenzofuran, and chlorodibenzo-p-dioxins by *Pseudomonas veronii* PH-03. *Biodegradation.* 15, 303-313.
- Honrath, R. E., Sweet, C. W., Plouff, C. J., 1997.** Surface exchange and transport processes governing atmospheric PCB levels over the Lake Superior. *Environ. Sci. Technol.* 31, 842-852.
- Huang, W., Peng, P., Yu, Z., Fu, J., 2003.** Effects of organic matter heterogeneity on sorption and desorption of organic compounds by soil and sediments. *Appl. Geochem.* 18, 955-972.
- Hwang, S. y Cutright, T. J., 2003.** Preliminary exploration of the relationships between soil characteristics and PAH desorption and biodegradation. *Environ. Int.* 29, 887-894.
- Hwang, S., Ramírez, N., Cutright, T. J., Ju, L. K., 2003.** The role of soil properties in pyrene sorption and desorption. *Water Air Soil Pollut.* 143, 65-80.
- Jackson, M.L. 1975.** Soil Chemical Analysis: Advanced Course. M. L. Jackson, Madison, WI.
- Jacobsen, O. H., Moldrup, P., Larsen, C., Konnerup, L., Petersen, L. W., 1997.** Particle transport in macropores of undisturbed soil columns. *J. Hydrol.* 196, 185-203.

- Jellali, S., Muntzer, P., Razakarisoa, O., Schafer, G., 2001.** Large scale experiment on transport of trichloroethylene in a controlled aquifer. *Transp. Porous. Media.* 44, 145-163.
- Jenkins, M B., Lion, L. W., 1993.** Mobile bacteria and transport of polynuclear aromatic-hydrocarbons in porous-media. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 3306-3313.
- Jianlong W., Xuan Z., Weizhong W., 2003.** Biodegradation of phthalic acid esters (PAEs) in soil bioaugmented with acclimated activated sludge. *Process Biochemistry* 39, 1837-1841.
- Johansen, S. S., Hansen, A. B., Mosbaek, H., Arvin, E., 1997.** Identification of heteroaromatic and other organic compounds in ground water at creosote-contaminated sites in Denmark. *Ground Water Monit. Rem.* 17, 106-115.
- Johnsen, A. R., Wick, L.Y., Harms, H., 2005.** Principles of microbial PAH-degradation in soil. *Environ. Pollut.* 133, 71-84.
- Jones, D. L., 1998.** Organic acids in the rhizosphere – a critical review. *Plant and Soil.* 205, 25-44.
- Jones, K. D., Tiller, C. L., 1999.** Effect of solution chemistry on the extent of binding of phenanthrene by a soil humic acid: a comparison of dissolved and clay bound humic. *Environ. Sci. and Technol.* 33, 580-587.
- Jonsson, S., Ejlerstson, J., Ledin, A., Mersiowsky, I., Svensson, B.H., 2003.** Mono- and diesters from *o*-phthalic acid in leachates from different European landfills. *Water Res.* 37, 609-617.
- Jury, W. A., Russo, D., Streile, G., Abd, H., 1990.** Evaluation of volatilization by organic chemicals residing bellow the soil surface. *Water Resour. Res.* 26, 13-20.
- Kacker, T., Haupt, E.T.K., Garms, C., Francke, W., Steinhart, H., 2002.** Structural characterisation of humic acid-bound PAH residues in soil by C-13-CPMAS-NMR-spectroscopy: evidence of covalent bonds. *Chemosphere* 48, 117-131.
- Kalbitz, K., Solinger, S., Park, J. H., Michalzik, B., Matzner, E., 2000.** Control on the dynamics of dissolved organic matter in soils: a review. *Soil Sci.* 165, 277-304.

Kaplan, D. I., Bertsch, P. M., Adriano, D. C., Miller, W. P., 1993. Soil-borne colloids as influenced by water flow and organic carbon. *Environ. Sci. Technol.* 27, 1193-1200.

Kaplan, D. I., Summer, M. E., Bertsch, P. M., Adriano, D. C., 1996. Chemical conditions conducive to the release of mobile colloids from Ultisols profiles. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 60, 269-274.

Karapanagioti, H. K., Kleineidam, S., Sabatini, D. A., Grathwohl, P., Liogouis, B., 2000. Impacts of heterogeneous organic matter on phenanthrene sorption: equilibrium and kinetic studies with aquifer material. *Environ. Sci. Technol.* 34, 406-414.

Karickhoff, S. W., 1984. Organic pollutant sorption in aquatic systems. *J. Hydraul. Engineering.* 110, 707-735.

Kearney, P. C., Shelton, D. R., Koskinen, W. C., 1997. Soil chemistry of pesticides. p. 419-451. En M. Howe-Grant (ed.) *Encyclopedia of Chemical Technology.* 4th ed., Vol. 22. John Wiley & Sons, New York.

Kiellerich, O., Arvin, E., 1996. Ground water contamination from creosote sites. *Ground Water Monitoring Review.* 16, 112-117.

Kim, Y., Freeman, J., Moody, J., Engesser, K. y Cerniglia, C., 2005. Effects of pH on the degradation of phenanthrene and pyrene by *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 67, 275-285.

Korfmacher, W. A., Wehry, E. L., Mamantov, G., Natusch Resistance, D. F. S., 1980. Resistance to photochemical decomposition of polycyclic aromatic hydrocarbons vapor-adsorbed on coal fly ash. *Environ. Sci. Technol.* 14, 1094-1099.

Koskinen, W. C., O'Connor, G. A., Cheng, H. H., 1979. Characterization of hysteresis in the desorption of 2,4,5-T from soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 43, 871-874.

Krein, A., Schorer, M., 2000. Road runoff pollution by polycyclic aromatic hydrocarbons and its contribution to the river sediments. *Water Res.* 34, 4110-4115.

Kubicki, J. D., Itoh, M. J., Schroeter, L. M., Apitz, S. E., 1997. Bonding mechanisms of salicylic acid adsorbed onto illite clay: an ATR-FTIR molecular orbital study. *Environ. Sci. Technol.* 31, 1151-1156.

Kukkonen, J., McCarthy, J. F., Oikari, A., 1990. Effects of XAD-8 fractions of dissolved organic carbon on the sorption and bioavailability of organic micropollutants. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 19, 551-557.

Laegdsmand, M., Villholth, K. G., Ullum, M., Jensen, K. H., 1999. Processes of colloids mobilization and transport in macroporous soil monoliths. *Geoderma.* 93, 33-59.

Lahvis, M. A., Baehr, A. L., Baker, R. J. 1999. Quantification of aerobic-biodegradation and volatilization rate of gasoline hydrocarbons near the water table during natural attenuation conditions. *Water Resour. Res.* 35, 753-765.

Langbehn, A., Steinhart, 1994. Biodegradation studies of hydrocarbons in soils by analyzing metabolites formed. *Chemosphere.* 30, 855-868.

Lantz, S. E., Montgomery, M. T., Schultz, W. W., Pritchard, P. H., Spargo, B. J., Mueller J. G., 1997. Constituents of an organic wood preservative that inhibit the fluoranthene degrading activity of *Sphingomonas paucimobilis* strain EPA505. *Environ. Sci. Technol.* 31, 3573-3580.

Lányi, K., Dinya, Z., 2003. Photodegradation study of some triazine-type herbicides. *Microchemical Journal.* 75, 1-14.

Laor, Y., Farmer, W. J., Aochi, Y., Strom, P., 1998. Phenantrene binding and sorption to dissolved and to mineral-associated humic acid. *Water Reseach.* 32, 1923-1931.

Lawrence, J. R., Peter, R., Baxter, G. J., Robson, J., Graham, A. B., Paterson, J. R., 2003. Urinary excretion of salicylic and salicylic acids by non-vegetarians, vegetarians, and patients taking low dose aspirin. *J. Clinical Pathol.* 56, 651-653.

Lee, R. G. M., Jones, K. C., 1999. The influence meteorology and air masses on daily atmospheric PCB and PAH concentration at a UK location. *Environ. Sci. Technol.* 33, 705-712.

Liñan, C., 1994. Vademecum de Productos Fitosanitarios y Nutricionales. C. Liñan (ed) Madrid.

Macias, F. A., Lacret, R., Varela, R. M., Nogueiras, C., Molinillo, J. M. G., 2008. Bioactive apocarotenoids from *Tectona grandis*. *Phytochemistry*. 69, 2708-2715.

Mackay, D., Shiu, W. Y., Ma, K. C., 1992. Illustrated Handbook of Physical-Chemical Properties and Environmental Fate of Organic Chemicals: Volume II. Polynuclear Aromatic Hydrocarbons, Polychlorinated Dioxins, and Dibenzofurans; Lewis Publishers: Chelsea, MI.

Mackay, A. A., Gschwend, P. M., 2001. Enhanced concentrations of PAHs in groundwater at a coal tar site. *Environ. Sci. Technol.* 35, 1320-1328.

Magee, B. R., Lion, L.W., Lemley, A. T., 1991. Transport of dissolved organic macromolecules and their effect on the transport of phenanthrene in porous-media. *Environ. Sci. Technol.* 25, 323-331.

Maila, M. P., Cloete, T. E., 2002. Germination of *Lepidium sativum* as a method to evaluate polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) removal from contaminated soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 50, 107-113.

Manoli, E., Samara, C., 1999. Polycyclic aromatic hydrocarbons in natural waters: sources, occurrence and analysis. *Trends Anal. Chem.* 18, 417-428.

Massmann, J., Farrier, D. F., 1992. Effects of atmospheric pressures on gas transport in the vadose zone. *Water Resour. Res.* 28, 777-791.

Marr, L. C., Booth, E. C., Andersen, R. G., Widdowson, M. A, Novak, J. T., 2006. Direct volatilization of naphthalene to the atmosphere at a phytoremediation site. *Environ. Sci. Technol.* 40, 5560-5566.

Maxin, C. R., Kögel-Knabner, I., 2005. Partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) to water-soluble soil organic matter. *European J. Soil Sci.* 46, 193-204.

Mayer, L.M., Xing, B., 2001. Organic matter-surface area relationships in acid soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 65, 250-258.

Mcdonald, J. A., 2006. Aerobic degradation assessment for the fungicide bas 505 using batch and intact soil core methodologies. PhD dissertation. Department of Agronomy & Environmental Management. Louisiana State University.

McKeague, J. A., Day, J. H., 1996. Dithionite- and oxalate-extractable Fe and Al as aids in differentiating various classes of soils. *Can. J. Soil Sci.* 46, 13-22.

Metcalf, C. D., Koenig, B. G., Bennie, D. T., Servos, M., Ternes, T. A., Hirsch, R., 2003. Occurrence of neutral and acidic drugs in the effluents of Canadian sewage treatment plants. *Environ. Toxicol. Chem.* 22, 2872-2880.

Meyer, S., Cartellieri, S., Steinhart, H., 1999. Simultaneous determination of PAHs, hetero-PAHs (N, S, O), and their degradation products in creosote-contaminated soils. Method development, validation, and application to hazardous waste sites. *Analytical Chemistry.* 71, 4023-4029.

Meyer, S., Steinhart, H., 2000. Effects of the heterocyclic PAHs (N, S, O) on the biodegradation of typical tar oil PAHs in a soil / compost mixture. *Chemosphere.* 40, 359-367.

Meyer, S., Steinhart, H., 2001. Fate of PAHs and hetero-PAHs during biodegradation in a model soil/compost-system: formation of extractable metabolites. *Water, Air, and Soil Pollution.* 132, 215-231.

Mill, T., Mabey, W. R., Lan, B. Y., Baraze, A., 1981. Photolysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in water. *Chemosphere.* 10, 1281-1290.

Miller, J. S., Olejnik, D., 2001. Photolysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in water. *Water Research.* 35, 233-243.

Moore, S. W., Ramamoorthy, S., 1984. Organic chemicals in natural water. En: Applied Monitoring and Impact Assessment. Springer-Verlag, New York, pp. 289.

Motelay-Massei, A., Garban, B., Tiphagne-larcher, K., Chevreuril, M., Ollivon, D., 2006. Mass balance for polycyclic aromatic hydrocarbons in the urban watershed of Le Havre (France): Transport and fate of PAHs from the atmosphere to the outlet. *Water Research.* 40, 1995-2006.

Mueller, J. G., Chapman, P. J. y Pritchard, P. H., 1989. Creosote contaminated sites. *Environ. Sci. Technol.* 23, 1197-2101.

Njoroge, B. N. K., Ball, W. P., Cherry, R. S., 1998. Sorption of 1,2,4-trichlorobenzene and tetrachloroethene within an authigenic soil profile: changes in K_{oc} with soil depth. *J. Contaminant Hydrol.* 29, 347-377.

Northcott, G. L., Jones, K. C., 2000. Experimental approaches and analytical techniques for determining organic compound bound residues in soil and sediment. *Environ. Pollut.* 108, 19-43.

Oades, J. M., 1989. An introduction to organic matter in mineral soils. Minerals in Soil Environments (eds. J. B. Dixon y S. B. Weed) 2º Ed. Madison WI., 89-159.

O'Connor, G. A., Wierenga, P. J., Cheng, H. H., Doxtader, K. G., 1980. Movement of 2,4,5-T through large soil columns. *Soil Sci.* 130, 157-162.

O'loughlin, E. J., Traina, S. J., Sims, G. K., 2000. Effect of sorption on the biodegradation of 2-methylpyridine in aqueous suspensions of reference clay minerals. *Environ. Toxicol. Chem.* 19, 2168-2174.

Olson, D. A., Corsi, R. L., 2002. Fate and transport of contaminant indoor air. *Soil Sediment Contam.* 11, 583-601.

Onken, B. M., Traina, S. J., 1997. The sorption of pyrene and anthracene to humic acid-mineral complexes: effect of fractional organic carbon content. *J. Environ. Qual.* 26, 126-132.

Ortiz, I., Auria R., Sigoillot J.C., Revah S., 2003. Enhancing phenanthrene biomineralization in a polluted soil using gaseous toluene as a cosubstrate. *Environ. Sci. Technol.* 37, 805-810.

Osgerberby, J. M., 1970. Sorption of un-ionized pesticides by soils. Sorption and Transport Processes in Soils. *Sci. Monograph.* 37,63-78.

Payer, H. D., Soeder, C. J., Kunte, H., Karuwanna, P., Nonhoff, R., Graff, W., 1975. Accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons in cultivated microalgae. *Naturwissenschaften*. 62, 536.

Pennell, K. D., Abriola, L. M., Weber, W. J., Jr., 1993. Surfactant-enhanced solubilization of residual dodecane in soil columns .1. Experimental investigation. *Environ. Sci. Technol.* 27, 2332-2340.

Pilgrim, D. H., Huff, D. D., Steele, T. D., 1978. A field evaluation of subsurface and surface runoff: II. Runoff processes. *J. Hydrol.* 38, 319-341.

Poeton, T. S., Stensel, H. D., Strand, S. E., 1999. Biodegradation of polyaromatic hydrocarbons by marine bacteria: effect of soil phase on degradation kinetics. *Water Res.* 33, 686-880.

Poulsen, T. G., Yamaguchi, T., Moldrup, P., de Jonge, L. W., Rolston, D. E., 2000. Predicting volatile organic vapour sorption from soil specific surface area and texture. *J. Environ. Qual.* 29, 1642-1649.

Pusino, A., Liu, W., Gessa, C., 1992. Influence of organic matter and its clay complexes on metolachlor adsorption on soil. *Pesticide Science.* 36, 283-286.

Rav-Acha, C., Rebhun, M., 1992. Binding of organic solutes to dissolved humic substances and its effects on adsorption and transport in the aquatic environment. *Water Res.* 26, 1645-1654.

Rengasamy, P., Oades, J. M., 1977. Interaction of monomeric and polymeric species of metal ions with clay surfaces. II. Changes in surfaces properties of clay after addition of iron (III). *Aust. J. Soil Res.* 15, 235-242.

Rhoades, J.D., 1982. Cation exchange capacity. En: *Methods of Soil Analysis: Part 2, Chemical and Microbiological Properties*, 2º edn (eds A.L. Page, R.H. Miller y D.R. Keeney), 149-151. Agronomy Monograph No 9, American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison WI.

Roper, J.C., Pfaender, F.K., 2001. Pyrene and chrysene fate in surface soil and sand microcosm. *Environ. Toxicol. Chem.*, 20, 223-230.

Ryan, J. N., Gschwend, P .M., 1994a. Effects of ionic strength and flow rate on colloid release: relating kinetics to intersurface potential energy. *J. Colloid Interface Sci.* 164, 21-34.

Ryan, J. N., Gschwend, P .M., 1994b. Effects of solution chemistry on clay colloid release from an iron oxide-coated aquifer sand. *Environ. Sci. Technol.* 28, 1717-1726.

Ryan, J. N., Elimelech, M., 1996. Review: colloid mobilization and transport in groundwater. *Colloids Surf., A: Physiochem. Eng. Aspects.* 107,1-56.

Sabaté, J., Bayona, J. M., Solanas, A. M., 2001. Photolysis of PAHs in aqueous phase by UV irradiation. *Chemosphere.* 44, 119-124.

Samanta, S. K., Chakraborti, A. K., Jain, R. K., 1999. Degradation of phenanthrene by different bacteria: evidence for novel transformation sequences involving the formation of 1-naphthol. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 53, 98-107.

Sánchez, M. E., Estrada, I. B., Martínez, O., Martrín-Villacorta, J., Aller, A., Morán, A., 2004. Influence of the application of sewage sludge on the degradation of pesticides in the soil. *Chemosphere.* 57, 673-679.

Schlautman, M. A., Morgan, J. J., 1993. Binding of a fluorescent hydrophobic organic probe by dissolved humic substance and organically-coated aluminum-oxide surfaces. *Environ. Sci. Technol.* 27, 2523-2532.

Schwarzenbach, R., Gschwend, P., Imboden, D. M., 1993. Environmental Organic Chemistry. John Wiley & Sons, Cop., New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore.

Schwertmann U., Cornell, R. M., 1991. Iron Oxides in the Laboratory. Preparation and Characterization. VCH, Weinheim.

Seal, A. N., Pratley, J. E., Haig, T., An, M., 2004. Identification and quantitation of compounds in a series of allelopathic and non-allelopathic rice root exudates. *J. Chem. Ecol.* 30.

- Seaman, J. C., Bertsch, P. M., Miller, W. P., 1995.** Chemical control on colloid generation and transport in a sandy aquifer. *Environ. Sci. Technol.* 29, 1808-1815.
- Seta, A. K., Karathanasis, A. D., 1996.** Colloid-facilitated transport of metolachlor through intact soil columns. *J. Environ. Sci. Health, Part B.* 31, 949-968.
- Shen, Y. H., 1999.** Sorption of natural dissolved organic matter on soil. *Chemosphere* 38, 1505-1515.
- Shiwei, J., Tao, Z., Xudong, X., Ying, X., 2006.** Biodegradation of dibenzofuran by *Janibacter terrae* Strain XJ-1. *Current Microbiology.* 53, 30-36.
- Shor, L. M., Liang, W., Rockne, K. J., Young, L. Y., Taghon, G. L., Kosson, D. S., 2003.** Intra-aggregate mass transport-limited bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons to *Mycobacterium* strain PC01. *Environ. Sci. Technol.* 37, 1545-1552.
- Sofuoglu, A., Odabasi, M., Tasdemir, Y., Khalili, N. R., Losen, T. M., 2001.** Temperature dependence of gas-phase polycyclic aromatic hydrocarbon and organochlorine pesticide concentrations in Chicago air. *Atmospheric Environment.* 35, 6503-6510.
- Stauffer, P. H., Birdsell, K. H., Witkowski, M. S., Hopkins, J. K., 2005.** Vadose zone transport of 1,1,1-trichloroethane: Conceptual model validation through numerical simulation. *Vadose Zone J.* 4, 760-773.
- Stintzing, F. C., Hoffmann, M., Carle, R., 2006.** Thermal degradation kinetics of isoflavone aglycones from soy and red clover. *Mol. Nutr. Food Res.* 50, 373-377.
- Stope, M. B., Becher, D., Hammer, E., Schauer, F., 2002.** Cometabolic ring fission of dibenzofuran by Gram-negative and Gram-positive biphenyl-utilizing bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 59, 62-67.
- Subba-Rao, R. V., Alexander, M., 1982.** Effect of sorption in mineralization of low concentrations of aromatic compounds in lake water samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 44, 659-668.
- Swift R.S., 1996.** Organic matter characterization. En: *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods.* SSA, Madison, WI, pp. 1011-1069.

Tabatabai, M. A., Bremmer, J. M., 1970. Use of the Leco automatic 70-record carbon analyzer for total carbon analysis of soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 24, 608-610.

Takle, E. S., Massmann, W. J., Bandle, J. R., Schmidt, R. A., Zhou, X. H., Litvina, I. V., García, R., Doyle, R., Rice, C. W., 2004. Influence of high-frequency ambient pressure pumping on carbon dioxide efflux from soil. *Agric. Forest Meteorol.* 124, 193-206.

Talebpour, Z., Ghassempour, A., Shamsipur, M., 2003. Study of the pesticide naptalam degradation; theoretical and experimental. *J. Molecular Structure (Theochem)* 629, 43-49.

Tanji, K., Valoppi, L., 1989. Groundwater contamination by Trace Elements. *Agriculture, Ecosystems and Environment.* 26, 229-274.

Thompson, R. H., 1968. Naturally occurring quinines. Butterworth. 2^a ed. London.

Thomsen, A. B., Henriksen, K., Grøn, C., Møldrup, P., 1999. Sorption, transport, and degradation of quinoline in unsaturated soil. *Environ. Sci. Technol.* 33, 2891-2898.

Tillman, F. D., Choi, J. W., Smith, J. A., 2003. A comparison of direct measurement and model simulation of total flux of volatile organic compounds from the subsurface to the atmosphere under natural field conditions. *Water Resour. Res.* 39, 2098.

Toran, L., Palumbo, A. V., 1991. Colloid transport through fractured and unfractured laboratory sand columns. *J. Contam. Hydrol.* 9, 289-303.

Traulsen, F., Andersson, J. T., Ehrhardt, M. G., 1999. Acidic and non-acidic products from the photo-oxidation of the crude oil component dibenzothiophene dissolved in seawater. *Analytica Chimica Acta.* 392,19-28.

Tremolada, P., Burnett, V., Calamari, D., Jones, K. C., 1996. Spatial distribution of PAHs in the UK atmosphere using pine needles. *Environ. Sci. Technol.* 30, 3570-3577.

Ukrainczyk, L., Ajwa, H. A., 1996. Primisulfuron sorption on minerals and soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 60, 460-467.

USPHS, 1992. Toxicological profile for cresols. Agency for toxic Substances and disease Registry. <http://www.eco-usa.net/toxics/cresol.shtml>

Valsaraj, K. T., Ravikrishna, R., Choy, B., Reible, D. D., Thibodeaux, L. J., Price, C. B., Yost, S., Brannon, J. M., Myers, T. E., 1999. Air emissions from exposed contaminated sediments and dredged material. *Environ. Sci. Technol.* 33, 142-149.

Van Herwijnen, R., Springael, D., Slot, P., Govers, H. A. J., Parsons, J. R., 2003. Degradation of anthracene by *Mycobacterium* sp strain LB501T proceeds via a novel pathway, through o-phthalic acid. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 186-190.

Villa, J., López, Z., Bauzá, J. L., Minguillón, C., Grifoll, M., 2003. Accumulation of metabolites during bacterial degradation of PAH-mixtures. En: Proceedings of the 8th international FZK/TNO Conference on Contaminated Soil (ed. O. Uhlmann), pp. 472-480. F&U confirm, Leipzig.

Villholth, K. G., 1999. Colloid characterization and colloidal phase partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons in two creosote-contaminated aquifers in Denmark. *Environ. Sci. Technol.* 33, 691-699.

Vinten, A. J. A., Yaron, B., Nye, P. H., 1983. Vertical transport of pesticides into the soil when adsorbed to suspended particles. *J. Agric. Food Chem.* 31, 662-664.

Walker, W., J., McNutt, R. P., Maslanka, C. A., 1999. The potencial of urban runoff to surface sediments of the Passaic River: sources and chemical characteristics. *Chemosphere.* 38, 363-77.

Wang, Y. X., Yamazoe, A., Suzuki, S., Liu, C. T., Aono, T., Oyaizu, H., 2004. Isolation and characterization of dibenzofuran-degrading *Comamonas* sp strains isolated from white clover roots. *Current Microbiology.* 49, 288-294.

Wang, D., Chen, J, Xu, Z., Qiao, X., Huang, L., 2005. Disappearance of polycyclic aromatic hydrocarbons sorbed on surfaces of pine [*Pinua thunbergii*] needles under irradiation of sunlight: volatilization and photolysis. *Atmospheric Environment.* 39, 4583-4591.

Watson, J. R., Posner, A. M., Quirk, J. P., 1973. Adsorption of the herbicide 2,4-D on goethite. *J. Soil Sci.* 24, 503-511.

Wauchope, R. D., 1978. The pesticide content of surface water drainage from agricultural fields: a review. *J. Environ. Qual.* 7, 459-472.

Webber, D. B., 1983. Aerial flux of particulate hydrocarbons to the Chesapeake Bay estuary. *Marine Pollut. Bull.* 14, 416-421.

Weissenfels, W. D., Klewer, H. J., Langhoff, J., 1992. Adsorption of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by soils: influence on biodegradability and biotoxicity. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 36, 689-696.

Wilcke, W., 2000. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil – a review. *Med. Device Technol.* 11, 229-248.

Worthing, C. R., Hance, R. J., 1991. The Pesticide Manual. BCPC, Surrey, U.K.

Xia, X. H., Yu, H., Yang, Z. F., Huang, G. H., 2006. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the natural waters of the Yellow River: Effects of high sediment content on biodegradation. *Chemosphere.* 65, 457-466.

Xing, B., 2001. Sorption of naphthalene and phenanthrene by soil humic acids. *Environmental Pollution.* 111, 303-309.

Yamazoe, A., Yagi, O., Oyaizu, H., 2004. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by a newly isolated dibenzofuran-utilizing Janibacter sp. Strain YY-1. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 65, 211-218.

Yuan, S. Y., Chang, J. S., 2001. Biodegradation of phenanthrene in river sediment. *Chemosphere.* 43, 273-278.

Zachara, J. M., Ainsworth, C. C., Felice, L. J., Resch, C. T., 1986. Quinoline sorption to subsurface materials: Role of pH and retention of the organic cation. *Environ. Sci. Technol.* 20, 620-627.

Zachara, J. M., Ainsworth, C. C., Cowan, C., Thomas, B. L., 1987. Sorption of binary mixtures of aromatic nitrogen heterocyclic compounds on subsurface materials. *Environ. Sci. Technol.* 21, 397-402.

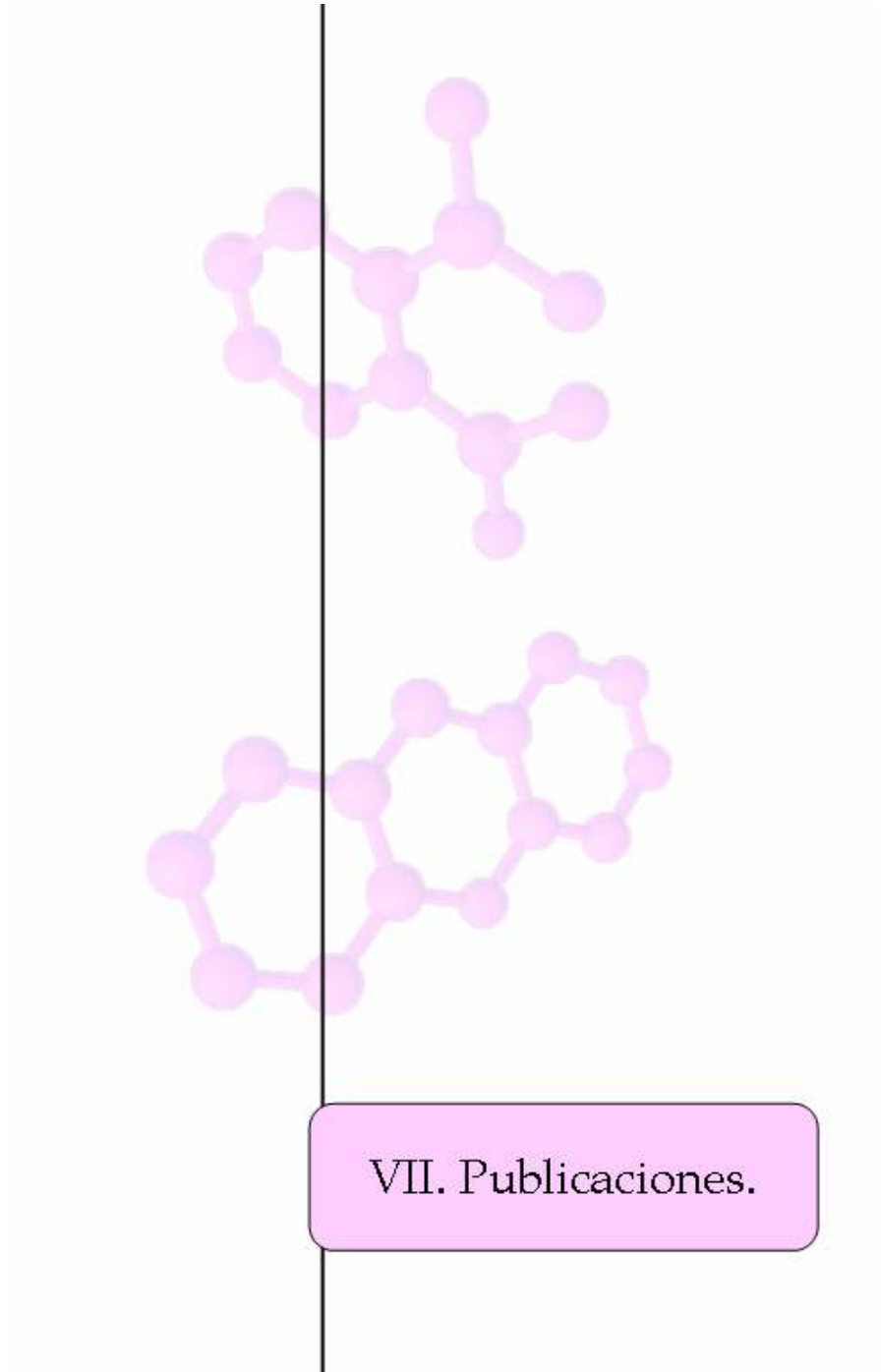
Zachara, J. M., Ainsworth, C. C., Schmidt, R. L., Resch, C. T., 1988. Influence of cosolvents on quinoline sorption by subsurfaces material and clays. *J. Contam. Hydrol.* 2, 343-364.

Zachara, J. M., Ainsworth, C. C., Smith, S. C., 1990. The sorption of N-heterocyclic compounds on reference and subsurface smectite clay isolates. *J. Contam. Hydrol.* 6, 281-305.

Zeep, R. G., Scholtzhauer, P. F., 1979. Photoreactivity of selected aromatic hydrocarbons in water. In: Jones, P. W., Leber, P. (Eds.), *Polynuclear Aromatic Hydrocarbons*. Ann Arbor Science Publishers Inc., Ann Arbor, MI, pp. 141-158.

Zhang, Y., Miller, R. M., 1992. Enhanced octadecane dispersion and biodegradation by pseudomonas rhamnolipid surfactant (biosurfactant). *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 3276-3282.

Zhu, D. Q., Herbert, B. E., Schlautman, M. A., 2003. Sorption of pyridine to suspended soil particles studied by deuterium nuclear magnetic resonance. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 67, 1370-1377.



VII. Publicaciones.

Sorption and leaching behaviour of polar aromatic acids in agricultural soils by batch and column leaching tests

R. CELIS, M. REAL, M. C. HERMOSÍN & J. CORNEJO

Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla, CSIC, Avda Reina Mercedes 10, Apdo 1052, 41080 Sevilla, Spain

Summary

Aromatic acids can reach the soil from direct anthropogenic activities or, indirectly, from the degradation of many aromatic compounds, such as pesticides or polycyclic aromatic hydrocarbons. Because of the anionic character of aromatic acids at the pH of most soil and sediment environments, they are expected to move rapidly through the soil profile and to pose a great risk of ground water contamination. We designed batch and column leaching tests to characterize the behaviour of three aromatic acids differing in their chemical structures, picloram (4-amino-3,5,6-trichloropicolinic acid), phthalic acid (2,2-benzenedicarboxylic acid), and salicylic acid (2-hydroxybenzoic acid), in four European soils with different physicochemical characteristics. Batch experiments revealed that the persistence of the three acids in soil:water suspensions decreased in the order: picloram >> phthalic acid > salicylic acid, and their dissipation curves were relatively independent of soil type. Sorption by the soils, their clay-size fractions and model sorbents indicated much greater affinity of soil constituents for salicylic acid than for picloram or phthalic acid, most likely due to the ability of salicylic acid to form bidentate complexes with positively charged soil components. The extent of leaching of the aromatic acids in hand-packed soil columns decreased in the order: picloram (90–96%) > phthalic acid (25–90%) > salicylic acid (0–37%), which was consistent with the sorption and persistence results of the batch tests. The organic C content, the amount of small-size pores, and the initial concentration of a aromatic acid in soil appeared to be important factors influencing the leaching patterns of phthalic acid and salicylic acid in the soils studied, but did not greatly influence the leaching pattern of picloram. Sorption and leaching of polar aromatic acids in soil can therefore vary considerably depending on the structural characteristics of the aromatic acid or soil type.

Introduction

Contamination of ground and surface waters by organic pollutants is of growing concern. Soil organic contaminants reach such waters through runoff and leaching processes. The extent of these processes is greatly dependent on soil composition and the chemical characteristics of the organic contaminant. In contrast to very hydrophobic compounds, organic chemicals with large water solubility display a great potential for ground water contamination since they easily migrate to aquifers. Anionic compounds are a particular concern, because they are mostly weakly retained by soil particles and have repeatedly been detected in ground and surface waters in Europe (Celis *et al.*, 1999; Dubus *et al.*, 2001).

Aromatic acids, such as phenols, benzoic acids and their substituted derivatives, can reach the soil through agricultural practices, industrial emissions or accidental spills, or the degrad-

ation of hydrophobic pollutants such as pesticides, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), and heterocyclic aromatic compounds (Cerniglia, 1991; Hong *et al.*, 2000). Considerably less attention is usually given to the fate of polar metabolites in soil, even though many of them can display significantly greater mobility compared with very hydrophobic parent compounds (Vila *et al.*, 2003). As an example, in creosote-contaminated soils neither the relatively polar heterocyclic aromatic compounds nor polar metabolites are normally included in the chemical analysis (Küllerich & Arvin, 1996). The need to detect, identify, and assess the behaviour of polar metabolic intermediates in soils contaminated with organic pollutants has been stressed to improve risk assessments and evaluation of remediation technologies (Langbehn & Steinhart, 1994; Meyer *et al.*, 1999; Vila *et al.*, 2003).

Picloram (4-amino-3,5,6-trichloropicolinic acid) is an acidic herbicide commonly used at application rates up to 9.5 kg ha⁻¹ to control deeply rooted herbaceous weeds and woody plants in

Correspondence: R. Celis. E-mail: rcelis@imase.csic.es
Received 20 February 2004; revised version accepted 17 August 2004

forestry, rangelands, pastures, and small grain crops (Worthing & Hance, 1991; USEPA, 1995). Because of the small sorption and great persistence of picloram in soils, its major dissipation route appears to be leaching, and a number of studies have reported its appearance in ground water in significant amounts (USEPA, 1995; Wood & Anthony, 1997; Pang *et al.*, 2000). Phthalic acid (1,2-benzenedicarboxylic acid) and salicylic acid (2-hydroxybenzoic acid) are intermediates of the degradation pathways of many aromatic compounds. They are reported to form during degradation of PAHs (Cemiglia, 1991; Samanta *et al.*, 1999), heterocyclic aromatic compounds (Hong *et al.*, 2000), and phthalic acid diesters (Jonsson *et al.*, 2003). Although their persistence in soil is supposed to be less than that of the parent compounds, these metabolites can display greater risk of ground water contamination as a result of their great water solubilities and weak retention by most soil and sediment components. Therefore, they can move very rapidly through the soil profile and reach ground water, where chemicals can persist without changing (USPHS, 1992). Acidic metabolites, including phthalic acid and salicylic acid, have been identified in soil and water samples at concentrations up to mg kg^{-1} and mg l^{-1} , respectively (Meyer *et al.*, 1999; Jonsson *et al.*, 2003).

We report the results of batch and column experiments designed to compare the sorption and leaching behaviour of picloram, phthalic acid, and salicylic acid in four European soils with different physicochemical characteristics. Sorption tests with the clay-size fractions of the soils and a series of single, binary and ternary model sorbents were also conducted to assess the importance of various soil components in the sorption of the aromatic acids. Picloram, phthalic acid, and salicylic acid were used in this work as models of aromatic acids differing in their chemical structures that might occur in soils contaminated by organic pollutants as a result of anthropogenic activities and natural transformation processes.

Materials and methods

Aromatic acids

Analytical grade picloram (purity 97.5%) was purchased from Dr Ehrenstorfer Laboratory (Germany). *Ortho*-phthalic acid (purity 98%) and salicylic acid (purity > 99%) were purchased from Sigma (Germany). The water solubilities of picloram, salicylic acid, and phthalic acid are 430, 1800, and 5740 mg l^{-1} , respectively. Picloram ($\text{p}K_{\text{a}} = 2.3$), salicylic acid ($\text{p}K_{\text{a}} = 2.9$), and *o*-phthalic acid ($\text{p}K_{\text{a}1} = 2.9$, $\text{p}K_{\text{a}2} = 5.5$) are weak acids whose anionic forms predominate at the pH of most soil and sediment environments. The chemical structures of the compounds are shown in Figure 1.

Soil types and characterization

We used four agricultural soils from different edaphoclimatic regions of Europe in this study (Table 1). The soils were

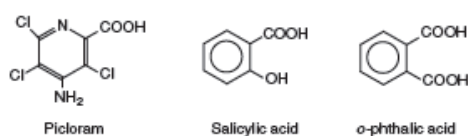


Figure 1 Chemical structures of picloram, salicylic acid, and *o*-phthalic acid.

sampled (0–20 cm), air-dried, and sieved to pass a 2-mm mesh before use. Soil particle-size distribution was determined by sedimentation (Gee & Bauder, 1982). The organic C content and the cation exchange capacity (CEC) of the soils were determined according to Tabatabai & Bremner (1970) and Rhoades (1982), respectively. The pore-size distribution (from 40 to $0.004 \mu\text{m}$) of each soil was determined by mercury intrusion porosimetry using a Carlo Erba 2000 porosimeter. A soil core of approximately 1 g was sampled and dried at 90°C for 24 hours before the porosity analysis. A fractal model of the porous medium was applied to the mercury intrusion porosimetry data to describe the pore-size distribution of the soils by a single numerical value, D_k (soil-surface fractal dimension) (Friesen & Mikula, 1987; Celis *et al.*, 1996). Soil-surface fractal dimensions (D_k) were calculated from the slope of the logarithmic plot of the cumulative surface area (S_{cum} , $\text{m}^2 \text{ g}^{-1}$) against pore radius (r_p , μm), where S_{cum} is calculated from the cumulative mercury intrusion curve assuming cylindrical pores (Celis *et al.*, 1996).

Batch experiment with soils

Suspensions containing 50 g of soil and 100 ml of $10 \mu\text{M}$ solutions of picloram, phthalic acid, or salicylic acid were incubated at $20 \pm 2^\circ\text{C}$ in glass bottles closed with screw caps. At selected times, the bottles were hand-shaken, allowed to settle for 10 minutes, and then 2 ml of the supernatant solution was diluted with 2 ml of methanol, filtered, and analysed by high

Table 1 Physicochemical properties of the soils

Soil property	P2	Askov	Borris	Kettering
Country of origin	Spain	Denmark	Denmark	UK
Organic C /%	0.56	1.39	1.67	2.09
Sand /%	69	70	72	49
Silt /%	10	19	21	26
Clay /%	21	11	7	25
CEC / $\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$	22.8	10.6	11.8	19.2
pH ^a	7.3	6.3	6.4	6.7
V_p (0.004–1 μm) ^b / $\text{mm}^3 \text{ g}^{-1}$	32	50	24	90
V_p (1–40 μm) ^c / $\text{mm}^3 \text{ g}^{-1}$	109	98	104	57

^aMeasured in a 1:2.5 soil:deionized water suspension.

^bVolume of pores with radii in the range 0.004–1 μm .

^cVolume of pores with radii in the range 1–40 μm .

performance liquid chromatography (HPLC). Initial solutions without soil were also prepared and served as controls. At selected times, the amount of aromatic acid in the solid phase was also determined by extracting soil aliquots (5 g) with 10 ml of an extractant solution consisting of the same eluent mixture used for HPLC analysis of the compounds (see below). The suspensions were shaken for 24 hours, centrifuged (30 minutes at 5000 g) and the amount of aromatic acid extracted was determined by HPLC. Preliminary experiments showed that the extraction procedures used recovered more than 95% of the chemical freshly applied to the soil. Differences between the initial concentration and the sum of the amount of chemical in solution and that extracted from the soil were assumed to be due to degradation or irreversible sorption to the soil. The batch experiment with soils was conducted in duplicate. Experiments with salicylic acid were also performed at an initial concentration of 1 mM.

Sorption tests

Sorption of the aromatic acids on the clay fraction of the soils (<2 μm particle-size fraction) and model sorbents was determined by a batch equilibration methodology. The clay fraction of the soils was separated by sedimentation using the pipette method, with prior carbonate elimination (Jackson, 1975). Once extracted, the clay fractions were saturated with Ca^{2+} by three successive treatments with 0.5 M CaCl_2 , then washed with deionized water until Cl-free and freeze-dried. The soil-clay samples were characterized by elemental analysis, BET-specific surface area (SSA) measurements, and determination of the silicate clay mineralogy by X-ray diffraction according to Brown (1961).

Single, binary, and ternary model sorbents containing Wyoming montmorillonite (SW), poorly crystallized ferrihydrite (Ferrih), and soil-extracted humic acid (HA) were prepared in the laboratory according to Cruz-Guzmán *et al.* (2003). Briefly, the procedure followed to prepare binary and ternary model sorbents consisted of Fe(III) precipitation in the presence of montmorillonite and shaking of dissolved HA in the presence of clay or ferrihydrite particles, followed by lyophilization.

For sorption measurements, duplicate 50 mg sorbent samples were treated in glass centrifuge tubes with 10 ml of 10 μM solution of the aromatic acids prepared in 0.01 M CaCl_2 solution. The suspensions were shaken for 24 hours at $20 \pm 2^\circ\text{C}$, centrifuged (30 minutes at 5000 g), 2 ml of supernatant removed, diluted with 2 ml of methanol and analysed by HPLC. Initial solutions without sorbent were also shaken for 24 hours and served as controls. The amount of chemical sorbed to the soil clays or model sorbents was calculated from the difference between the initial and equilibrium solution concentrations. Sorption distribution coefficients (K_d , kg^{-1}) were calculated for each sorbent by dividing the amount of chemical sorbed (C_s , $\mu\text{mol kg}^{-1}$) by the equilibrium concentration (C_e , $\mu\text{mol l}^{-1}$).

Column leaching experiment

We studied leaching in 20 cm length \times 3 cm internal diameter (i.d.) glass columns filled with air-dried soil. Glass wool plus 10 g of sea sand was placed on the bottom of the columns to avoid losses of soil and contamination of leachates with soil particles. The columns were hand-packed with 180 g of soil, and then 10 g of sea sand was placed on the soil surface. The columns were saturated with water, allowed to drain for 24 hours, and then 0.7 mg of picloram, salicylic acid, or phthalic acid dissolved in 5 ml of water was applied to the top of the soil columns, to give an application rate of 10 kg ha^{-1} . Leaching of salicylic acid was also investigated at an application rate of 100 kg ha^{-1} (7 mg). After application of the aromatic acid, the columns were leached daily with 15 ml of distilled water until no chemical was detected in the leachates. Leachates were collected daily in glass vials containing 5 ml of methanol and stored at 4°C until analysed. A preliminary experiment showed that addition of methanol stabilized the leachates, preventing any disappearance of the aromatic acids from the leachates during storage before analysis. At the end of the leaching experiment, soil samples from different depths of the soil column (0–5, 5–10, 10–15, and 15–20 cm depth) were extracted once with 100 ml of extracting solution (as used for HPLC analysis) by shaking mechanically at $20 \pm 2^\circ\text{C}$ for 24 hours. The suspensions were centrifuged (30 minutes at 5000 g), filtered, and analysed by HPLC in order to determine the residual amount of chemical at the different depths of the soil column. The leaching study was conducted in triplicate.

Aromatic acid analysis

Picloram, salicylic acid, and phthalic acid were analysed by HPLC using a Waters 600E chromatograph coupled to a Waters 996 diode-array detector. The following conditions were used: eluent mixture at a flow rate of 1 ml minute^{-1} , Novapack C18 column (150 mm length \times 3.9 mm i.d.), 25 μl injection volume, and ultraviolet detection. The eluent mixture consisted of 75% diluted H_3PO_4 (pH 2):25% methanol for picloram, 55% diluted H_3PO_4 (pH 2):45% methanol for salicylic acid, and 80% diluted H_3PO_4 (pH 2):20% methanol for phthalic acid. Quantification was carried out at 225 nm (picloram), 302 nm (salicylic acid), and 230 nm (phthalic acid) using external calibration curves.

Results and discussion

Batch experiment with soils

Figure 2 shows dissipation curves for picloram, phthalic acid, and salicylic acid in soil:water suspensions. While most picloram remained in solution during the experiment, the concentration of phthalic acid and salicylic acid in solution decreased rapidly with time. For all four soils, the persistence

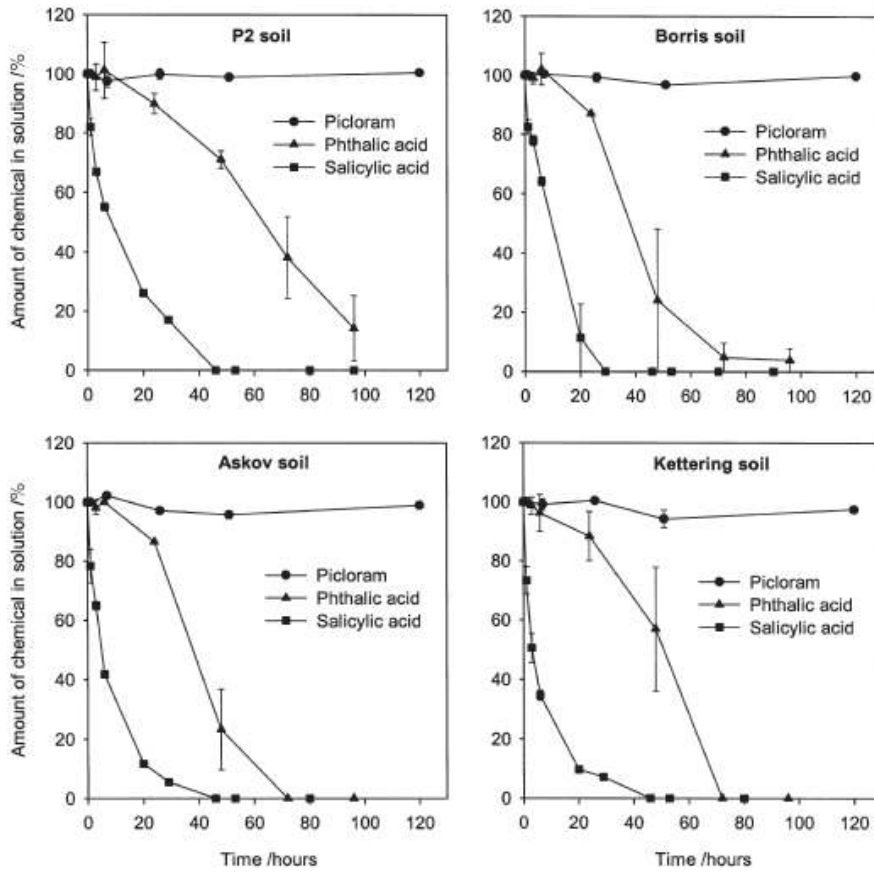


Figure 2 Dissipation curves for picloram, phthalic acid, and salicylic acid in soil:water suspensions.

of the aromatic acids in the soil solution followed the sequence: picloram > phthalic acid > salicylic acid. The dissipation curves of the aromatic acids were not strongly dependent on soil type.

At short sampling times (< 10 hours), we observed a negligible decrease in the solution concentration of picloram and phthalic acid. In contrast, a significant decrease in the concentration of salicylic acid was apparent even at very short sampling times (i.e. 1 hour) (Figure 2). On the basis that sorption is usually a very rapid process, often considered instantaneous, one possible explanation for the decrease in salicylic acid concentration at very short incubation times could be its sorption on soil particles, a phenomenon that was not observed for

picloram or phthalic acid. Extraction experiments for picloram, phthalic acid, and salicylic acid from P2 soil confirmed this hypothesis. While no picloram or phthalic acid was extracted from the soil solid phase during the first 24 hours (not shown), much of the salicylic acid that disappeared from the solution at short incubation times was recovered by soil extraction, confirming soil sorption (Figure 3a). These results, showing greater affinity of salicylic acid for soil surfaces compared with picloram and phthalic acid, are similar to those recently reported by Dubus *et al.* (2001). These authors compared the sorption of three organic acids, clofencet, 2,4-D, and salicylic acid, by soils with different characteristics and observed that salicylic acid was sorbed to a greater extent

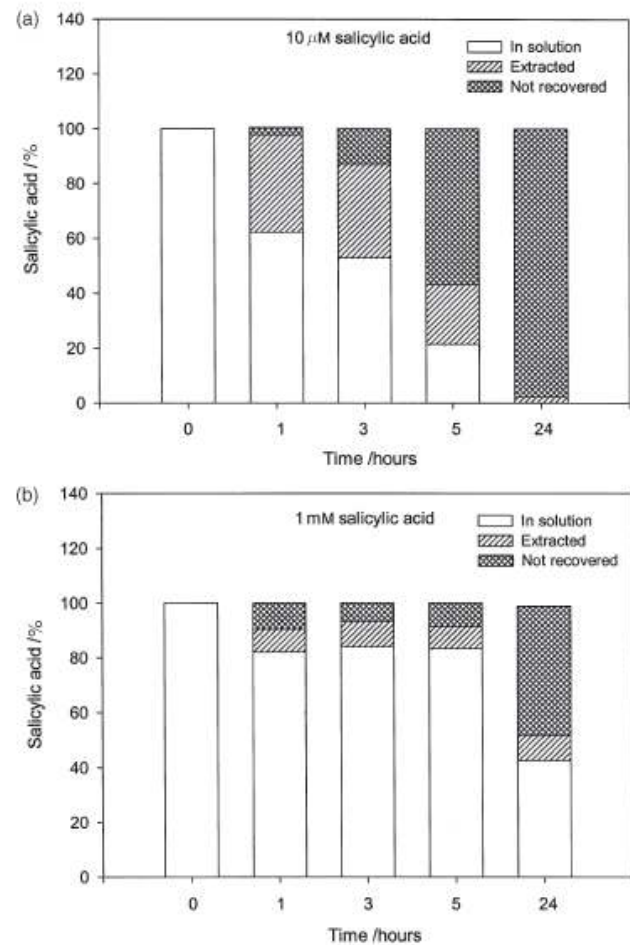


Figure 3 Amount of salicylic acid in solution, extracted from the soil, and not recovered during the batch experiment with P2 soil: (a) initial concentration 10 µM; (b) initial concentration 1 mM.

than the other two organic acids. The authors found that positively charged soil surfaces played a significant role in the sorption of salicylic acid by soils and pointed out the possibility of this aromatic acid forming bidentate complexes with metals. In these complexes, both the $-\text{COOH}$ and $-\text{OH}$ groups of salicylic acid would simultaneously bind to the metal oxide surface.

The amounts of phthalic acid and salicylic acid not recovered during the batch experiment can be attributed to degradation, irreversible sorption to the soil particles, or both. Nevertheless, the lack of affinity of phthalic acid for the soil

solid phase suggests that irreversible soil binding of this aromatic acid was unlikely to occur during our short-term batch study. In fact, the sharp decrease in the solution concentration of phthalic acid observed in Figure 2 for all soils after a lag of about 10 hours is typical of microbial degradation of compounds utilized as microbial growth substrate (Kearney *et al.*, 1997; Vila *et al.*, 2003). Very rapid biodegradation of small molecular weight organic acids, including phthalic acid, in surface soil horizons has been described in previous work (Evans, 1998). These results strongly suggest that degradation could have been the major cause of the rapid dissipation of

phthalic acid during our batch experiment with soils. In contrast, on the basis of the great affinity of salicylic acid for the soil surfaces, both degradation and irreversible soil binding could have contributed to the fraction of this chemical not recovered during the batch experiment. It is interesting to note that the initial concentration of salicylic acid influenced its dissipation pattern. Greater concentrations of salicylic acid reduced the fraction of chemical sorbed and degraded, prolonging its persistence in the aqueous phase (Figure 3b).

Sorption tests

Sorption of organic compounds by soil has often been related to the soil clay (< 2 µm) fraction, mainly due to the large reactive surface areas associated with the small particle size of clay-size components. The characteristics of the purified clay-size fraction of the soils studied are given in Table 2. The clay fractions varied in their organic C content and clay mineralogy. The large organic C content of the clay fraction of the Borris soil should be noted: about 40% of this clay sample is organic matter. Mineralogical analysis revealed that the clay mineral content of the Borris soil was very small: just traces of kaolinite and illite/mica were identified. Montmorillonite and kaolinite predominated in the clay fraction of the P2 and Kettering soils, respectively. The Askov soil had the most heterogeneous clay fraction, containing significant amounts of kaolinite, illite/mica, and montmorillonite/vermiculite displaying some resistance to swelling.

Sorption experiments on soil clay fractions revealed very little sorption of picloram or phthalic acid (< 5%, not shown), which was in contrast to considerable sorption of salicylic acid by all soil clays (19–46%, Table 2). These results confirmed the greater affinity of salicylic acid for soil components, in particular clay-size components, compared with that of picloram and phthalic acid. There was no clear

relationship between the extent of salicylic acid sorption and the organic C content or the mineralogical characteristics of the soil clay samples (Table 2). In agreement with the results of Dubus *et al.* (2001), it appears that other active soil components, such as positively charged metal oxides, may have governed the retention of this compound by soil colloids.

To identify key soil components in the sorption of salicylic acid, a number of single, binary, and ternary model sorbents containing three major soil clay constituents, montmorillonite (SW), ferrihydrite (Ferrih), and humic acid (HA), were tested in batch sorption experiments (Table 3). Salicylic acid sorption on single sorbents increased in the order: HA < SW << Ferrih, which reveals the great affinity of salicylic acid for positively charged soil components, such as iron oxides. Nevertheless, considerable sorption of salicylic acid by SW was also measured, which could be attributed to sorption of the organic acid to the clay particle edges or bridging through bivalent cations, such as Ca²⁺ (Kubiicki *et al.*, 1997; Dubus *et al.*, 2001; Cecchi *et al.*, 2004). The negligible sorption of salicylic acid observed on HA illustrates that organic matter may not be a major soil component in the sorption process of polar acidic organic compounds.

Results for salicylic acid sorption by binary and ternary model sorbents were consistent with those obtained for single sorbents and further confirmed the role of iron oxides in salicylic acid sorption. The presence of Ferrih in SW–Ferrih binary particles greatly enhanced the sorption of salicylic acid, whereas the presence of HA reduced its sorption by SW–HA binary particles (Table 3). This reduction in salicylic acid sorption in the presence of HA was not seen in the Ferrih–HA model particles, despite HA in these particles having previously been seen to be extensively associated with the mineral phase (Cruz-Guzmán *et al.*, 2003). One would expect that such association between HA and Ferrih would result in considerable blocking of the Ferrih surface and hence in

Table 2 Characteristics of the soil clay fractions and sorption coefficients for salicylic acid. Percentage of chemical sorbed (% Ads) and sorption distribution coefficients (K_d). Values are means ± standard error

Soil clay	Amount recovered /%	Organic carbon content /%	SSA ^a /m ² g ⁻¹	pH ^b	Mineralogy ^c	% Ads	K_d /l kg ⁻¹
Borris	< 2	23.94 ± 0.10	12 ± 1	6.0	K and I (traces)	46 ± 5	170 ± 34
Askov	5	6.38 ± 0.07	28 ± 2	6.3	K (38%) I (24%) M/V (37%)	19 ± 2	46 ± 5
Kettering	15	3.30 ± 0.08	57 ± 1	6.1	K (80%) I (10%) M (10%)	22 ± 1	57 ± 1
P2	15	0.99 ± 0.04	109 ± 1	6.2	M (62%) K (22%) I (15%)	40 ± 1	136 ± 8

^aSSA, specific surface area.

^bMeasured in 50 mg solid suspended in 10 ml 0.01 M CaCl₂.

^cK, kaolinite; I, illite; M, montmorillonite; V, vermiculite.

Table 3 Sorption coefficients for salicylic acid on model sorbents. Percentage of salicylic acid sorbed (% Ads) and sorption distribution coefficients (K_d) at initial concentration 10 μ M. Values are means \pm standard error

	Sorbent	Sorbent composition ^a /%			pH ^b	% Ads	K_d / kg ⁻¹
		SW	Ferrih	HA			
Single model sorbents	SW	100	0	0	7.0	25 \pm 1	66 \pm 4
	Ferrih	0	100	0	5.8	98 \pm 2	4747 \pm 210
	HA	0	0	100	2.3	<2	<5
Binary associations	SW-Ferrih ₀	100	0	0	6.3	61 \pm 1	308 \pm 2
	SW-Ferrih ₈	92.7	7.3	0	4.7	91 \pm 1	2061 \pm 83
	SW-Ferrih ₁₆	86.3	13.7	0	4.8	94 \pm 1	3074 \pm 572
	SW-HA ₀	100	0	0	6.5	54 \pm 2	240 \pm 23
	SW-HA ₄	95.7	0	4.3	5.2	28 \pm 4	79 \pm 17
	SW-HA ₈	93.3	0	6.7	5.2	37 \pm 1	117 \pm 2
	Ferrih-HA ₀	0	100	0	6.6	93 \pm 1	2576 \pm 59
	Ferrih-HA ₄	0	96.3	3.7	6.0	96 \pm 1	4404 \pm 177
	Ferrih-HA ₈	0	93.1	6.9	6.4	94 \pm 1	3932 \pm 443
Ternary associations	SW-Ferrih-HA ₀	85.2	14.8	0	5.2	90 \pm 1	1797 \pm 167
	SW-Ferrih-HA ₄	82.5	14.6	2.9	5.8	77 \pm 1	674 \pm 1
	SW-Ferrih-HA ₈	81.0	13.5	5.5	5.3	69 \pm 3	453 \pm 57

^aSW, Wyoming montmorillonite; Ferrih, ferrihydrite; HA, humic acid.

^bMeasured in 50 mg solid suspended in 10 ml 0.01 M CaCl₂.

reduced sorption of salicylic acid. However, the behaviour of the Ferrih-HA model particles can be explained by taking into account that most of the porosity of Ferrih is due to micropores that are not accessible for the large HA macromolecules, and thus would have remained available to sorb salicylic acid (Celis *et al.*, 1999; Cruz-Guzmán *et al.*, 2003). Interestingly, salicylic acid sorption by ternary model sorbents decreased with the amount of HA in the samples, revealing significant blocking of sorption sites by the HA. This sorption behaviour reveals, in summary, not only the importance of positively charged soil components, such as iron oxides, in the retention of salicylic acid, but also that the amount and nature of the surface that remains available after interaction of single soil constituents greatly determine the sorptive behaviour of salicylic acid. Furthermore, the sorption behaviour of salicylic acid on model sorbents seen in the present work is very similar to that reported by Celis *et al.* (1999) for the sorption of the acidic herbicide 2,4-D by analogous model particles, although sorption coefficients reported here for salicylic acid are much greater than those found by Celis *et al.* (1999). This further confirms a particularly great affinity of salicylic acid for soil components compared with other non-chelating acidic compounds, such as picloram, phthalic acid, or 2,4-D.

Column leaching experiment

Cumulative breakthrough curves (BTCs) of picloram, phthalic acid, and salicylic acid in the soils studied are shown in Figure 4. For all four soils, the extent of leaching decreased in the order: picloram (90–96%) > phthalic acid (25–90%) > salicylic

acid (0–37%), which is strongly related to the persistence of the compounds observed in the batch experiment (Figure 2). Since negligible amounts of the aromatic acids were extracted from the soils after the leaching experiment (not shown), differences between the amounts of phthalic acid and salicylic acid applied to the soil columns and those leached should be attributed to either degradation or irreversible sorption of the compounds during the leaching experiment, or both. According to the results of the batch tests, it is likely that for phthalic acid degradation predominated over irreversible sorption, whereas both mechanisms could have contributed to the small recoveries of salicylic acid.

Picloram and phthalic acid were identified in the leachates of all four soils, whereas salicylic acid was identified only in the leachates of the P2 soil. The amount of phthalic acid leached from the P2 soil was also greater than the amounts leached from Borris, Askov, and Kettering soils (Figure 4). One possible explanation for this finding is that the very small organic C content of the P2 soil (Table 1) resulted in reduced microbial activity within the soil column, which retarded degradation and enhanced leaching of phthalic acid and salicylic acid. Phthalic acid has previously been shown to be biodegraded at a particularly slow rate in a subsurface soil horizon (Bt1) characterized by its very small organic matter content (Evans, 1998).

The great leaching of picloram from all four soils (>90%) is in accordance with its weak sorption and great persistence seen in the batch study (Figure 2). It also agrees with previous work reporting rapid movement and slow degradation of this compound in soil (Kohl *et al.*, 1994; USEPA, 1995). The smaller

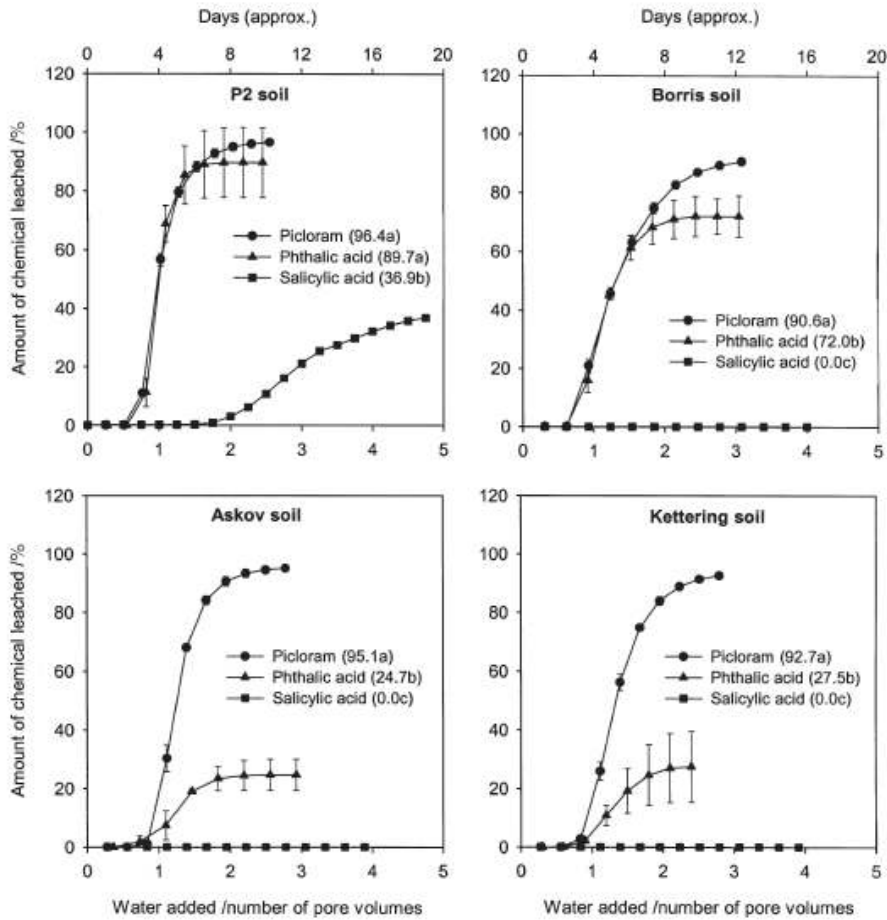


Figure 4 Cumulative breakthrough curves of aromatic acids in soils (application rate 10 kg ha^{-1}). Values in parentheses represent the total percentage of chemical leached. For each soil, values followed by different letters are significantly different at the $P < 0.05$ level.

amounts of phthalic acid leached (25–90%) agree with the weaker persistence of this aromatic acid in the batch study compared with picloram. Under column leaching conditions, degradation of phthalic acid seems to have been greatly exacerbated in the Askov and Kettering soils compared with the P2 and Borris soils, reducing the total amount of chemical leached (Figure 4). Taking into account that the batch experiment did not show enhanced dissipation of phthalic acid in those soils and that the organic C content of the Askov soil was even less than that of the Borris soil, the reduced leaching observed in the Askov and Kettering soils could be related to

their porosity characteristics (Table 1, Figure 5). The Askov and Kettering soils were characterized by having a large amount of small pores (Table 1). The large surface fractal dimension values (D_s) associated with the pore-size distributions of the Askov and Kettering soils (Figure 5) were also indicative of predominance of small pores compared with the Borris and P2 soils (Celis *et al.*, 2001), although the curvature of the plots of $\log S_{cum}$ against $\log r_p$ seen for the Borris, P2, and Askov soils suggests a change in the fractal structure of these soils as pores become smaller (Kindratenko *et al.*, 1994). As suggested by Cox *et al.* (1997), small amounts of large pores

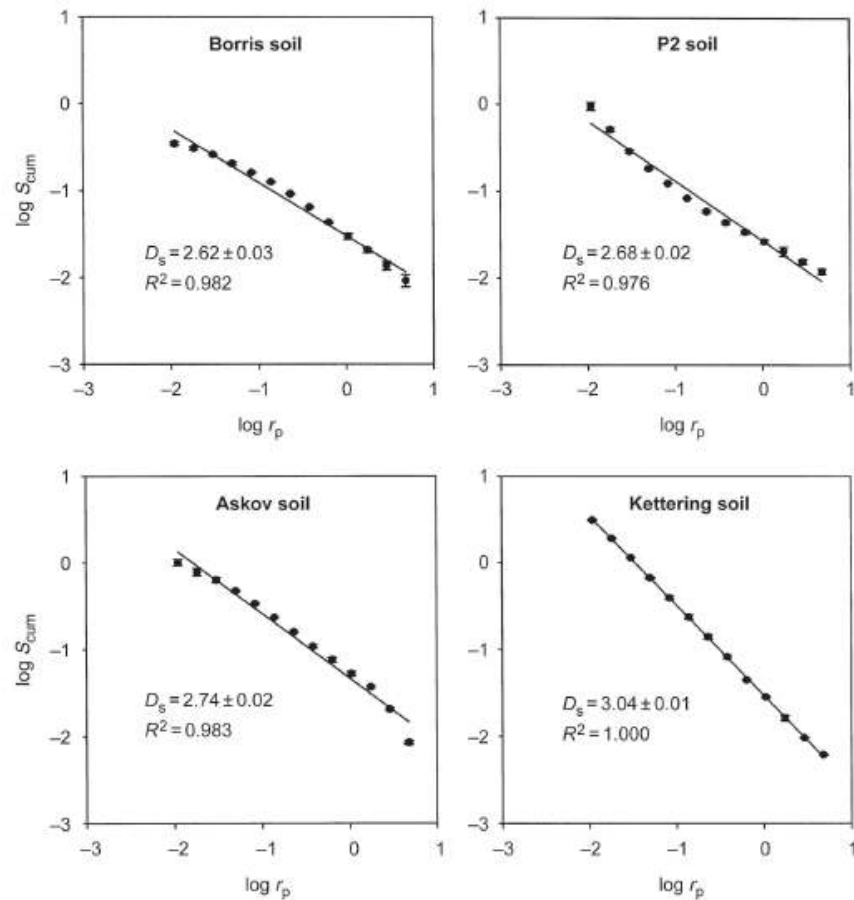


Figure 5 Plots of $\log S_{cum}$ against $\log r_p$ and corresponding soil-surface fractal dimensions (D_s) from mercury intrusion porosimetry data of the soils.

and predominance of small pores can increase the residence time of herbicides in immobile pore water under column leaching, enhancing the likelihood of degradation within the soil column. Accordingly, predominance of small pores in the Askov and Kettering soils, as indicated by the volume of pores with radii $< 1 \mu\text{m}$ (Table 1) and also by their large D_s values (Figure 5), might have increased the residence time of phthalic acid in the soil column, enhancing the opportunity for degradation. Nevertheless, it is interesting to note that considering the timescale of Figures 2 and 4, persistence of phthalic acid in all four soils under column leaching conditions was

greater than that observed in batch conditions. This could be related to the small water content and/or dynamic conditions of the leaching experiment, and suggests that the persistence of aromatic acids during soil leaching processes can be greater than expected from their persistence in static batch systems. A similar conclusion was reached by Evans (1998) on the basis of the greater mineralization rates observed for phthalic acid under biometer flask conditions compared with those measured under column and field conditions.

For all four soils, the maximum concentration of picloram and phthalic acid (inflection point of the cumulative BTC)

appeared very close to one pore volume of the soil columns, which indicates very little sorption of both compounds by the soils (Beck *et al.*, 1993). In contrast, the maximum concentration of salicylic acid appeared in the leachates of the P2 soil at about three pore volumes, indicating significant sorption (Beck *et al.*, 1993). These results support our batch data that revealed lack of sorption for picloram and phthalic acid by the four soils and their clay-size components, but significant sorption of salicylic acid. In the Borris, Askov, and Kettering soils, it appeared that rapid degradation and/or irreversible sorption of salicylic acid prevented any leaching of the compound. However, an increase in the application rate of salicylic acid to the soil columns from 10 to 100 kg ha⁻¹ enhanced the extent of leaching of salicylic acid in all four soils and reduced its retardation in the P2 soil column (Figure 6). At this application rate, leaching of salicylic acid was considerable in the P2 soil, moderate in the Borris soil, and small in the soils where fine pores predominated, i.e. the Askov and Kettering soils. The increase in salicylic acid leaching at greater concentration of the chemical is in accordance with the results of the batch experiment with the P2 soil (Figure 3) showing that large concentrations of salicylic acid resulted in an increased fraction of chemical in the aqueous phase and reduced sorption and degradation in the soil suspension. Similarly to phthalic acid, degradation and/or irreversible sorption of salicylic acid under leaching conditions was favoured in the Askov and Kettering soils that had mainly small pores.

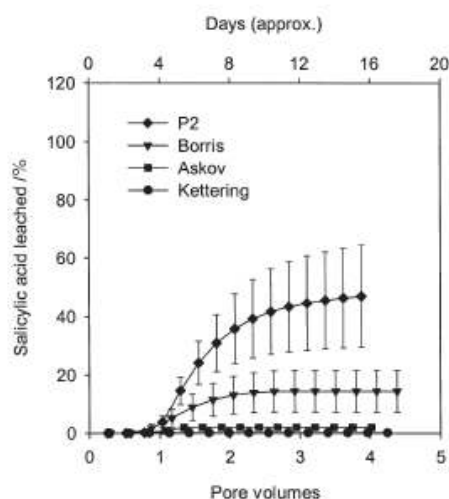


Figure 6 Cumulative breakthrough curves of salicylic acid in soils (application rate 100 kg ha⁻¹).

© 2004 British Society of Soil Science, *European Journal of Soil Science*, 56, 287–297

Conclusions

Batch and column leaching tests with picloram, phthalic acid, and salicylic acid in soils with different physicochemical characteristics revealed that the sorption and leaching behaviour of aromatic acids in soil can be very different depending on soil type and the structural characteristics of the aromatic acid. Picloram, as a model of a very persistent and weakly sorbed aromatic acid, moved rapidly through the soil profile, displaying an extremely large leaching potential. Less persistent aromatic acids, represented in this work by the polar metabolites phthalic acid and salicylic acid, displayed considerably less leaching potential, although their presence in soil column leachates was greater than expected from their short-term persistence observed in batch, static tests. As suggested in previous work, it appears that batch tests can overestimate the actual dissipation rate of weakly persistent aromatic acids occurring under soil leaching conditions. The soil organic C content, the amount of small pores, and the initial concentration of aromatic acid appeared to be important factors determining the leaching behaviour of phthalic acid and salicylic acid in the soils tested, but not for picloram.

Acknowledgements

This work was financed by the FP5 EU Project 'Development of a Decision Support System for Sustainable Management of Contaminated Land by Linking Bioavailability, Ecological Risk, and Ground Water Pollution of Organic Pollutants' (EVK1-CT-2001-00105) (<http://www.liberation.dk>). We thank Dr Hubert de Jonge for the physicochemical characterization of the soils.

References

- Beck, A.J., Johnston, A.E. & Jones, K.C. 1993. Movement of nonionic organic chemicals in agricultural soils. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 23, 219–248.
- Brown, G. 1961. *The X-ray Identification and Crystal Structures of Clay Minerals*. Mineralogical Society, London.
- Cecchi, A.M., Koskinen, W.C., Cheng, H.H. & Haider, K. 2004. Sorption-desorption of phenolic acids as affected by soil properties. *Biology and Fertility of Soils*, 39, 235–242.
- Celis, R., Cornejo, J. & Hermosin, M.C. 1996. Surface fractal dimensions of synthetic clay-hydroxous iron oxide associations from nitrogen adsorption isotherms and mercury porosimetry. *Clay Minerals*, 31, 261–263.
- Celis, R., Hermosin, M.C., Cox, L. & Cornejo, J. 1999. Sorption of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid by model particles simulating naturally-occurring soil colloids. *Environmental Science and Technology*, 33, 1200–1206.
- Celis, R., Cox, L., Hermosin, M.C. & Cornejo, J. 2001. Porosity and surface fractal dimension of soils as affecting sorption, degradation and mobility of polar herbicides. In: *Pesticide Behaviour in Soils and Water* (ed. A. Walker), pp. 77–82. British Crop Protection Council, Brighton.

- Cemiglia, C.E. 1991. Biodegradation of organic contaminants in sediments: overview and examples with polycyclic aromatic hydrocarbons. In: *Organic Substances and Sediments in Water* (ed. R.A. Baker), Volume 3, pp. 267-281. Lewis Publishers, Chelsea, MI.
- Cox, L., Celis, R., Hermosin, M.C., Becker, A. & Cornejo, J. 1997. Porosity and herbicide leaching in soils amended with olive-mill wastewater. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 65, 151-161.
- Cruz-Guzmán, M., Celis, R., Hermosin, M.C., Leone, P., Nègre, M. & Cornejo, J. 2003. Sorption-desorption of lead (II) and mercury (II) by model associations of soil colloids. *Soil Science Society of America Journal*, 67, 1378-1387.
- Dubus, I.G., Barriuso, E. & Calvet, R. 2001. Sorption of weak organic acids in soils: clofencot, 2,4-D and salicylic acid. *Chemosphere*, 45, 767-774.
- Evans, A. 1998. Biodegradation of C-14-labeled low molecular weight organic acids using three biometer methods. *Journal of Geochemical Exploration*, 65, 17-25.
- Friesen, W.I. & Mikula, R.J. 1987. Fractal dimensions of coal particles. *Journal of Colloid and Interface Science*, 120, 263-271.
- Gee, G.W. & Bauder, J.W. 1982. Particle-size analysis. In: *Methods of Soil Analysis: Part 1, Physical and Mineralogical Methods*, 2nd edn (ed. A. Klute), pp. 383-411. Agronomy Monograph No 9, American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison, WI.
- Hong, H.B., Chang, Y.S., Choi, S.D. & Park, Y.H. 2000. Degradation of dibenzofuran by *Pseudomonas putida* PH-01. *Water Research*, 34, 2404-2407.
- Jackson, M.L. 1975. *Soil Chemical Analysis: Advanced Course*. M.L. Jackson, Madison, WI.
- Jonsson, S., Ejlertsson, J., Ledin, A., Mersiowsky, I. & Svensson, B.H. 2003. Mono- and diesters from *o*-phthalic acid in leachates from different European landfills. *Water Research*, 37, 609-617.
- Kearney, P.C., Shelton, D.R. & Koskinen, W.C. 1997. Soil chemistry of pesticides. In: *Encyclopedia of Chemical Technology*, 4th edn (ed. M. Howe-Grant), Volume 22, pp. 419-451. John Wiley & Sons, New York.
- Küllerich, O. & Arvin, E. 1996. Ground water contamination from creosote sites. *Ground Water Monitoring Review*, 16, 112-117.
- Kindratenko, V.V., Van Espen, P.J.M., Treiger, B.A. & Van Grieken, R.E. 1994. Fractal dimensional classification of aerosol particles by computer-controlled scanning electron microscopy. *Environmental Science and Technology*, 28, 2197-2202.
- Kohl, R.A., Carlson, C.G. & Wangemann, S.G. 1994. Herbicide leaching potential through road ditches in thin soils over an outwash aquifer. *Applied Engineering in Agriculture*, 10, 497-503.
- Kubicki, J.D., Itoh, M.J., Schroeter, L.M. & Apitz, S.E. 1997. Bonding mechanisms of salicylic acid adsorbed onto illite clay: an ATR-FTIR molecular orbital study. *Environmental Science and Technology*, 31, 1151-1156.
- Langbehn, A. & Steinhart, H. 1994. Determination of organic acids and ketones in contaminated soils. *Journal of High Resolution Chromatography*, 17, 293-298.
- Meyer, S., Cartellieri, S. & Steinhart, H. 1999. Simultaneous determination of PAHs, hetero-PAHs (N, S, O), and their degradation products in creosote-contaminated soils. Method development, validation, and application to hazardous waste sites. *Analytical Chemistry*, 71, 4023-4029.
- Pang, L.P., Close, M.E., Watt, J.P.C. & Vincent, K.W. 2000. Simulation of picloram, atrazine, and simazine leaching through two New Zealand soils and into groundwater using HYDRUS-2D. *Journal of Contaminant Hydrology*, 44, 19-46.
- Rhoades, J.D. 1982. Cation exchange capacity. In: *Methods of Soil Analysis: Part 2, Chemical and Microbiological Properties*, 2nd edn (eds A.L. Page, R.H. Miller & D.R. Keeney), pp. 149-151. Agronomy Monograph No 9, American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison, WI.
- Samanta, S.K., Chakraborti, A.K. & Jain, R.K. 1999. Degradation of phenanthrene by different bacteria: evidence for novel transformation sequences involving the formation of 1-naphthol. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53, 98-107.
- Tabatabai, M.A. & Bremner, J.M. 1970. Use of the Leco automatic 70-record carbon analyzer for total carbon analysis of soils. *Soil Science Society of America Proceedings*, 24, 608-610.
- USEPA 1995. *Prevention Pesticides and Toxic Substances (7508W, EPA-738-F-95-018)*, pp. 1-11. <http://www.epa.gov/REDS/factsheets/0096fact.pdf>
- USPHS 1992. *Toxicological Profile for Cresols*. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. <http://www.eco-usa.net/toxics/cresol.shtml>
- Vila, J., López, Z., Bauzá, J.I., Minguillón, C. & Grifoll, M. 2003. Accumulation of metabolites during bacterial degradation of PAH-mixtures. In: *Proceedings of the 8th International FZK/TNO Conference on Contaminated Soil* (ed. O. Uhlmann), pp. 472-480. F&U confirm, Leipzig.
- Wood, J.A. & Anthony, D.H.J. 1997. Herbicide contamination of prairie springs at ultratrace levels of detection. *Journal of Environmental Quality*, 26, 1308-1318.
- Worthing, C.R. & Hance, R.J. 1991. *The Pesticide Manual*. British Crop Protection Council, Brighton.

The role of mineral and organic components in phenanthrene and dibenzofuran sorption by soil

R. CELIS^a, H. DE JONGE^b, L. W. DE JONGE^b, M. REAL^a, M. C. HERMOSIN^a & J. CORNEJO^a

^aInstituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla, CSIC, Avda Reina Mercedes 10, PO Box 1052, 41080 Sevilla, Spain, and

^bDanish Institute of Agricultural Sciences, Department of Agroecology, Research Centre Foulum, PO Box 50, 8830 Tjele, Denmark

Summary

Improved predictions of sorption of hydrophobic organic compounds (HOCs) in soil require a better knowledge of the relative contribution of inorganic and organic soil constituents to the sorption process. In this paper, sorption of a three-ring polycyclic aromatic hydrocarbon (phenanthrene) and a three-ring heterocyclic-aromatic compound (dibenzofuran) by six agricultural soils, their clay-size fractions, and a series of single, binary, and ternary model sorbents was evaluated to elucidate the relative role of soil mineral and organic components in the retention of these two model HOCs. The sorption coefficients for phenanthrene and dibenzofuran on purified soil organic materials ($K_d = 821\text{--}9080$ litre kg^{-1}) were two orders of magnitude greater than those measured on mineral model sorbents ($K_d = 0\text{--}114$ litre kg^{-1}). This, along with the strong correlation between sorption and the organic C content of the soil clay fractions ($r = 0.99$, $P < 0.01$), indicated a primary role of soil organic matter in the retention of both compounds. However, weak relationships between phenanthrene and dibenzofuran sorption coefficients and the organic C content of the bulk soils and variability of K_{oc} values among soils, clay fractions, and model sorbents (1340–21020 litre kg^{-1} C for phenanthrene and 1685–7620 litre kg^{-1} C for dibenzofuran) showed that sorption was not predictable exclusively from the organic C content of the materials. Organic matter heterogeneity and domain blockage arising from organic matter–clay interactions and associated pH shifts were identified as the most likely causes of the different organic C-normalized sorption capacities of the soils. A direct contribution from minerals to the sorption of phenanthrene and dibenzofuran by the soils studied was likely to be small. Our results suggested that suitable descriptors for the extent of organic matter–mineral interactions would help to improve current K_{oc} -based sorption predictions and subsequently the assessment of risk associated with the presence of HOCs in soil.

Introduction

Sorption is considered one of the principal processes determining the bioavailability and movement of organic contaminants in the environment. Modelling the fate and transport of organic contaminants in soil and water systems requires quantitative estimates of sorption. Tools for ranking contaminated sites according to risks and prioritization of clean-up measures for brown-field redevelopment are also based on sorption predictions. Since one of the keys for understanding sorption and aging processes is the composition of the soil matrix, much effort has been devoted to relate sorption to the soil composition. For very hydrophobic organic compounds (HOCs), research over the last three decades has stressed the primary role of soil organic matter (SOM) in the sorption process, primarily because inorganic constituents are normally hydrated and sorption of HOCs by SOM predominates over

sorption to minerals (Hamaker & Thompson, 1972; Carmo *et al.*, 2000; Wauchope *et al.*, 2002). Accordingly, a common approach to describe and predict the partitioning of HOCs between the soil's solid and solution phases has been to take the product of an organic C-normalized distribution coefficient, K_{oc} , and the mass fraction of organic C in the soil (Hamaker & Thompson, 1972; Karickhoff, 1984; Njoroge *et al.*, 1998).

Although the variability of K_{oc} values among soils with different physicochemical characteristics has been found to be large, the temptation to regard K_{oc} as a universal constant, independent of soil type, has been strong (Wauchope *et al.*, 2002). Recently, the increasing development of models to assess the impact of HOCs in the environment has intensified demand for more accurate sorption predictions. Consequently, achieving a better understanding of the causes of the wide variation in experimental values and correlations for the parameter K_{oc} is considered an important research goal (Jones & Tiller, 1999).

Correspondence: R. Celis. E-mail: rcelis@imase.csic.es
Received 12 October 2004; revised version accepted 14 April 2005

Research over the last decade has revealed that organic matter heterogeneity, solution chemistry, and the contribution of inorganic constituents to the sorption process are among the most important causes of the variability of K_{oc} . Thus, it has been suggested that the binding coefficient of SOM might be influenced by properties such as its aromaticity, polarity, structure or configuration, and abundance of certain functional groups (Laor *et al.*, 1998; Wauchope *et al.*, 2002; Huang *et al.*, 2003). Some of these characteristics, like SOM polarity or conformation, have been shown to vary with the solution chemistry, in particular with pH, ionic strength, and soil solution cation composition (Schlautman & Morgan, 1993; Njoroge *et al.*, 1998; Jones & Tiller, 1999). Considerable effort is currently directed to relate measurable indexes of SOM characteristics to its sorptivity towards different classes of HOCs (Njoroge *et al.*, 1998; Karapanagioti *et al.*, 2000; Ahmad *et al.*, 2001).

While there is a general consensus that organic matter characteristics can greatly influence its affinity for HOCs, the contribution of the inorganic fraction to the varied organic C-normalized sorption capacities of soils remains less well understood. Recent findings showing that very hydrophobic organic chemicals are able to interact extensively with certain clay minerals appear to be in conflict with the classical idea that, except for systems with very small organic C contents (< 1%), the sorption of HOCs is independent of mineral type and content. As an example, Hundal *et al.* (2001) reported that the sorption capacities of some reference smectites for phenanthrene are comparable to those of natural soil clays containing substantial amounts of organic C (> 4%).

Another potential effect of soil minerals, in particular those included in the clay-size fraction, is related to their ability to associate with SOM. Mineral-SOM interactions can influence the sorption capacity of SOM by direct blockage of domains involved in the sorption of HOCs or by inducing conformational changes leading to increased or decreased accessibility for HOCs (Pusino *et al.*, 1992; Njoroge *et al.*, 1998; Laor *et al.*, 1998; Jones & Tiller, 1999). Because the consequences of interactions of SOM with soil minerals on HOC sorption are not fully understood, identification of these interactions and determination of how they can be represented in future models have been stressed as important in improving sorption predictions (Celis *et al.*, 1998; Njoroge *et al.*, 1998; Jones & Tiller, 1999).

The present study was designed to provide further insight into the relative contribution of inorganic and organic components of soil in the retention of HOCs. For this purpose, the sorption of two model HOCs (phenanthrene and dibenzofuran) by six agricultural soils differing in organic C and clay contents, their clay-size fractions, and a series of single, binary, and ternary model sorbents was evaluated, and relationships between sorption and sorbent characteristics were established. The use of well-characterized binary and ternary model particles of three active soil constituents (montmorillonite,

ferrihydrite, and humic acid) allowed us to draw some conclusions concerning the effects of soil-mineral association on the sorption of HOCs and to illustrate the need to represent this association to improve sorption predictions.

Materials and methods

Chemicals

Dibenzofuran ($C_{12}H_8O$) is a three-ring heterocyclic, aromatic compound of molecular weight 168 g mol^{-1} and water solubility about 5 mg litre^{-1} at 25°C . Dibenzofuran of purity > 99%, purchased from Sigma (Germany), was used in this study. Phenanthrene ($C_{14}H_{10}$) is a three-ring, polycyclic, aromatic hydrocarbon of molecular weight 178 g mol^{-1} and water solubility about 1.2 mg l^{-1} at 25°C . Phenanthrene of purity > 98% was purchased from Aldrich Chemical Company, Inc. (Milwaukee, WI). Ring- UL - ^{14}C -phenanthrene (specific activity = 55 mCi mmol^{-1} ; radiochemical purity $\geq 99\%$) was purchased from American Radiolabeled Chemicals Inc. (St Louis, MO). The chemical structures of phenanthrene and dibenzofuran are shown in Figure 1.

Soils

Six agricultural soils differing in their physicochemical properties were selected for this study (Table 1). The soils were sampled from the top 0–20 cm layer, air-dried, and passed through a 2-mm aperture sieve before the experiments. Standard particle-size determination was performed by hydrorometer and sieve analysis (Gee & Bauder, 1982). Soil pH was measured in a 1:2.5 (w:w) soil:0.01 M CaCl_2 suspension. Total C was determined in a Leco 1000 CNS analyzer after combustion at 1650°C and subsequent infrared detection of CO_2 (Tabatabai & Bremner, 1970). Inorganic C was measured from the volume of CO_2 collected in a Scheibler apparatus, after addition of 10% HCl to 10 g of soil. The organic C content was calculated from the difference between total C and inorganic C. The cation exchange capacity (CEC) of the soils was determined by saturation with ammonium acetate, according to Rhoades (1982). Soil specific surface areas (SSA) were estimated by the EGME method, omitting pretreatments to remove organic matter and saturation with Ca^{2+} (Cihacek & Bremner, 1979), and also by nitrogen adsorption at 77 K

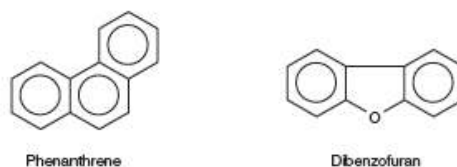


Figure 1 The molecular structures of phenanthrene and dibenzofuran.

Table 1 Physicochemical characteristics of the soils studied

Soil property	P2	Flakkebjerg	Askov	Borris	IFA	Kettering
Country of origin	Spain	Denmark	Denmark	Denmark	Austria	UK
Soil texture ^a	SCL	L	SL	SL	L	SCL
Sand ^b /%	68.4	41.6	68.4	69.8	31.0	47.2
Silt ^b /%	10.4	36.1	18.8	20.5	36.1	24.7
Clay ^b /%	20.3	20.2	10.4	6.9	24.7	24.5
Inorganic C /%	< 0.1	ND ^c	ND	ND	0.61	< 0.1
Organic C /%	0.56	1.25	1.39	1.67	1.84	2.09
Organic C/clay ratio	1:36	1:16	1:7	1:4	1:13	1:12
CEC ^d (Na ⁺) /cmol _c kg ⁻¹	0.11	0.27	0.12	0.17	17.4	0.11
CEC (K ⁺) /cmol _c kg ⁻¹	0.48	0.39	0.30	0.30	ND	0.29
CEC (Mg ²⁺) /cmol _c kg ⁻¹	2.82	0.69	0.48	0.51	ND	0.95
CEC (Ca ²⁺) /cmol _c kg ⁻¹	19.5	16.5	9.7	10.8	ND	17.8
CEC (total) /cmol _c kg ⁻¹	22.8	17.8	10.6	11.8	17.4	19.2
pH	7.3	7.1	6.3	6.4	7.7	6.7
EGME-SSA ^e /m ² g ⁻¹	19.3	37.0	17.4	10.4	39.1	52.3
N ₂ -SSA ^f /m ² g ⁻¹	19.5	8.8	5.3	4.4	18.1	18.5
ΔN ₂ -SSA ^g /m ² g ⁻¹	-	3.0	3.7	0	3.9	14.9

^aSCL, sandy clay loam; L, loam; SL, sandy loam. ^bDifferences between the sum sand + silt + clay and 100% correspond to the organic matter + carbonate content of the soils. ^cND, not detected. ^dCEC, cation exchange capacity. ^eEGME-SSA, specific surface area measured by ethyleneglycol-monomethylether retention. ^fN₂-SSA, specific surface area measured by nitrogen adsorption. ^gΔN₂-SSA, increase in N₂-SSA of the soils after calcination at 350°C.

using a Carlo Erba Sorptomatic 1990 (Fisons Instruments, Milan). The soil samples were degassed at 80°C and equilibrated under vacuum for 15 hours before measuring the N₂ adsorption isotherm. Nitrogen-SSA values were calculated for uncalcined and calcined (350°C, overnight) soil samples by applying the BET method to the N₂ adsorption data between relative pressures of 0.02 and 0.25.

Clay fractions

The clay fraction (< 2 μm particle-size fraction) of the Borris, Askov, Kettering, and P2 soils was separated by sedimentation using the pipette method after carbonate elimination (Jackson, 1975). Once extracted, the clay fractions were saturated with Ca²⁺ by three successive treatments with 0.5 M CaCl₂, and then washed with deionized water until Cl-free and freeze-dried. Elemental analysis of the soil clays was carried out in a Perkin-Elmer, model 1106, elemental analyzer (Perkin-Elmer Corp., Norwalk, CT). The silicate-clay mineralogy was determined semiquantitatively by X-ray diffraction analysis on oriented specimens of Mg²⁺- and K⁺-saturated samples treated with ethyleneglycol and calcined at 500°C, respectively (Brown, 1961). Specific surface areas of the soil clay samples were determined by N₂ adsorption as described above.

Model sorbents

The organic soil materials (Table 5) were selected for having a large organic matter content and small clay and carbonate

contents. Samples were collected from organic surface layers under aerobic (O_h) or anaerobic (H) conditions, and from an illuvial organic horizon (B_h). The O_hS, O_hF, and O_hP samples were taken from the wettest horizons of the organic topsoil in a spruce, Douglas fir, and Scots pine forest at Veluwe (the Netherlands). The B_h sample was collected at a depth of 60 cm in a Carbic Podzol near Veghel (the Netherlands), whereas the peat sample (H) was collected from a Histosol near Pesse (the Netherlands). All organic materials were dried at 50°C for 72 hours and ground to pass through a 2-mm aperture sieve before further use, except the O_hP sample, which was passed through a 1-mm aperture sieve. The humic acid fractions, HA1 and HA2, were prepared from commercially available humic acid (Aldrich H1, 675-2) and the A horizon (0–15 cm) of a Histosol, respectively. The commercial humic acid (HA1) was dissolved in demineralized water (1:50 w:w), brought to pH 2.0 with 0.1 M HCl, and allowed to settle for 24 hours. The precipitate was washed twice with 0.5 M and 0.01 M CaCl₂, respectively, in order to obtain the insoluble humate, and then freeze-dried. The soil humic acid (HA2) was extracted with 0.5 M NaOH, precipitated with 6 M HCl, washed with 0.1 M HCl and 0.3 M HF and then with distilled water, dialysed (molecular weight cutoff: 3.5 kDa) and freeze-dried.

Single, binary, and ternary model sorbents containing SWy-2 Wyoming montmorillonite (SW), poorly crystallized ferrihydrite, and soil-extracted humic acid (HA2) were prepared according to Cruz-Guzmán *et al.* (2003). In brief, SW-ferrihydrite binary associations were prepared by neutralizing with 0.1 M NaOH

(final pH = 7.5) suspensions containing 500 ml of $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ 15 or 30 mM and 10 g of SW. The resulting SW-ferrhydrite complexes were shaken for 16 hours, washed with deionized water until NO_3^- -free and finally freeze-dried. SW-HA2 and ferrhydrite-HA2 binary associations were prepared by shaking suspensions containing 400 ml of a dissolved HA2 solution (1 or 2 g litre⁻¹, pH 6.5) and 10 g of either SW or freshly precipitated ferrhydrite for 16 hours. After shaking, the suspensions were dialysed against distilled water and freeze-dried. Finally, SW-ferrhydrite-HA2 ternary particles were obtained by shaking 10 g of freshly precipitated SW-ferrhydrite binary complex in 400 ml of the dissolved HA2, then dialysing and freeze-drying.

Sorption by soils

Phenanthrene and dibenzofuran sorption isotherms on soils were obtained by the batch equilibration procedure using glass centrifuge tubes closed with Teflon caps. Triplicate soil aliquots (0.2 g for phenanthrene and 0.5 g for dibenzofuran) were equilibrated with 10 ml of aqueous solutions of phenanthrene or dibenzofuran by gently rotating in an end-over-end shaker (30 r.p.m.) at $20 \pm 2^\circ\text{C}$ for 24 hours. A preliminary kinetic experiment showed that apparent equilibrium was reached within 24 hours. Initial dibenzofuran solutions (5, 10, 15, and 20 μM) were prepared in 10 mM CaCl_2 from a stock 10 mM dibenzofuran solution prepared in acetone. The amount of acetone in the initial dibenzofuran solutions was therefore < 0.2%. Initial phenanthrene solutions (0.002, 0.02, 0.2, 2.0, and 3.5 μM) were prepared in 3 mM CaCl_2 by mixing labelled and non-labelled phenanthrene. The ¹⁴C activity of the initial phenanthrene solutions ranged between 22.8 and 45.7×10^3 Bq litre⁻¹. After equilibration, the suspensions were centrifuged at 5420 g for 1 hour, and then 3 ml of the supernatant solution was removed for analysis (see below) using a glass pipette. The amount of phenanthrene and dibenzofuran sorbed was calculated by difference between the initial and final solution concentrations. Initial solutions without soil were also shaken for 24 hours and served as controls. Sorption isotherms were fitted to the Freundlich equation: $C_s = K_f C_{eq}^n$, where C_s ($\mu\text{mol kg}^{-1}$) is the amount of chemical sorbed at the equilibrium concentration C_{eq} ($\mu\text{mol litre}^{-1}$), and n (unitless) and K_f ($\mu\text{mol}^{1-n} \text{ litre}^n \text{ kg}^{-1}$) are the empirical Freundlich constants, which can be calculated from the linear plot of $\log C_s$ against $\log C_{eq}$. Distribution coefficients, K_d (litre kg^{-1}), were also calculated for each soil at an initial concentration of 2 μM (phenanthrene) or 10 μM (dibenzofuran) by dividing the amount of chemical sorbed, C_s ($\mu\text{mol kg}^{-1}$), by the equilibrium solution concentration, C_{eq} ($\mu\text{mol litre}^{-1}$). These initial concentrations were selected to achieve about 30% of the water solubility of the compounds. Organic C-normalized distribution coefficients, K_{d-oc} ($\text{litre kg}^{-1} \text{ C}$), were calculated by dividing the K_d values by the fractional organic C content of the soils.

Sorption by soil clay fractions and model sorbents

Sorption of phenanthrene and dibenzofuran by soil clay fractions and model sorbents was determined at a single initial concentration by equilibrating (24 hours) 50 mg of sorbent with 10 ml of phenanthrene (2 μM) or dibenzofuran (10 μM) initial solution. For highly sorptive organic materials (i.e. Oh, H, and HA samples) smaller amounts of sorbent (10 mg) were used. After equilibration, the suspensions were centrifuged at 5420 g for 1 hour and the concentration of phenanthrene and dibenzofuran in the supernatant was determined as described below. Sorption distribution coefficients, K_d (litre kg^{-1}), were calculated for each sorbent by dividing the amount of chemical sorbed, C_s ($\mu\text{mol kg}^{-1}$), by the equilibrium solution concentration, C_{eq} ($\mu\text{mol litre}^{-1}$).

Analysis

Dibenzofuran was determined by high performance liquid chromatography (HPLC) (Waters 600E chromatograph coupled to a Waters 996 diode-array detector). The following chromatographic conditions were used: Novapak C18 column (150 mm length \times 3.9 mm internal diameter) (Waters), acetonitrile:water (70:30) eluent mixture at a flow rate of 1 ml minute⁻¹, 25 μl injection volume, and UV detector at 280 nm. External calibration curves with standard solutions of dibenzofuran between 1 and 20 μM were used in the calculations. Phenanthrene concentrations were determined by liquid scintillation counting (Packard 2250 CA, Downers Grove, IL) by mixing 3 ml of solution with 17 ml of Ultima Gold scintillation cocktail (Packard, Downers Grove, IL). Radioactivity measurements were transformed to concentration values using the ¹⁴C activity of the initial phenanthrene solutions. The limits of detection for the analytical methods used in this work were 0.1 μM for dibenzofuran and 10^{-4} μM for phenanthrene.

Results

Soil characterization

Results of the soil characterization are summarized in Table 1. The pH of the Askov, Borris, and Kettering soils was neutral to slightly acid with values in the range 6–7 (Table 1). Flakkebjerg, IFA, and P2 soils were neutral to slightly basic, with pH in the range 7–8. All the soils studied were agricultural soils, so that the pH could have been influenced over past decades by agricultural practices, such as liming. Nevertheless, appreciable levels of carbonates were found in the Austrian IFA soil only (Table 1), which is in accordance with the high pH of this soil. The organic C content of the soils ranged between 0.56% (P2 soil, Spain) and 2.09% (Kettering soil, UK). The small organic C content of the Spanish P2 soil is a common feature of soils from Mediterranean regions, and determines important physicochemical characteristics of

those soils. Excluding the P2 soil, there was a relatively small variability in organic C content (1.25–2.09 g 100 g⁻¹), and hence the variation of the CEC and SSA was mainly explained by the variation in the clay content. Indeed, the clay content showed a large variation from 6.9 to 24.7 g 100 g⁻¹, with a standard deviation of 47.4% of the mean, and was highly correlated with the CEC ($r = 0.94$, $P < 0.05$), N₂-SSA ($r = 0.92$, $P < 0.05$), and EGME-SSA ($r = 0.96$, $P < 0.01$).

Sorption by soils

Phenanthrene and dibenzofuran sorption isotherms on soils (Figure 2) were well described by the Freundlich equation, with regression coefficients $R^2 > 0.99$. Dibenzofuran sorption isotherms were L-type ($n = 0.67$ – 0.86) according to the Giles *et al.* (1960) classification, whereas a greater degree of linearity ($n = 0.89$ – 0.95) was observed for phenanthrene sorption (Table 2). The n values measured for dibenzofuran are within the range of 0.58–0.86 reported by Broholm *et al.* (1999) for the sorption of this compound on clayey till samples. The greater linearity of phenanthrene sorption isotherms, frequently related to partitioning into SOM (Chiou *et al.*, 1979; Onken & Traina, 1997; Carmo *et al.*, 2000), can be attributed to both the greater hydrophobicity of this compound (Figure 1) and the smaller concentrations used in phenanthrene sorption experiments compared with dibenzofuran (Celis *et al.*, 1997).

Correlation analyses were performed between sorption coefficients, K_d , calculated at single initial concentrations ($C_{i,ini} = 2 \mu\text{M}$ for phenanthrene and $C_{i,ini} = 10 \mu\text{M}$ for dibenzofuran), and relevant physicochemical soil properties (Table 3).

Considering all six soils, it was difficult to relate the sorption coefficients to the soil composition. The only statistically significant correlation ($P < 0.05$) was found between phenanthrene sorption and soil pH (Table 3, Figure 3). For both phenanthrene and dibenzofuran, K_d values were weakly positively related to the organic C content and inversely related to the clay content. Inverse relationships were also found between K_d and CEC, N₂-SSA, and EGME-SSA, probably because these soil properties were correlated with the clay content. These results suggest that several factors, including a positive effect of organic C and a negative effect of clay, could have simultaneously influenced the sorption of phenanthrene and dibenzofuran by the soils. In fact, a multivariate analysis showed that the multiple correlation coefficient between sorption and the organic C and clay content of the soils was 0.91 ($P = 0.07$) for both phenanthrene and dibenzofuran. Similarly, considering only the P2, Flakkebjerg, Askov, and Borris soils, where the increase in organic C content was accompanied by a decrease in clay content, phenanthrene and dibenzofuran sorption were strongly correlated with the organic C content ($r = 0.98$, $P = 0.01$ for both phenanthrene and dibenzofuran).

Figure 2 shows that at similar equilibrium concentrations phenanthrene was sorbed by all soils to a greater extent than dibenzofuran, which can be attributed to the solubility difference between the two compounds (Xing, 2001). Despite the different soil-to-solution ratios and different spiking concentrations used for phenanthrene and dibenzofuran, a very strong correlation ($r = 0.98$, $P < 0.001$) was found between the K_d values measured for phenanthrene and those measured for dibenzofuran, indicating that soil characteristics influenced

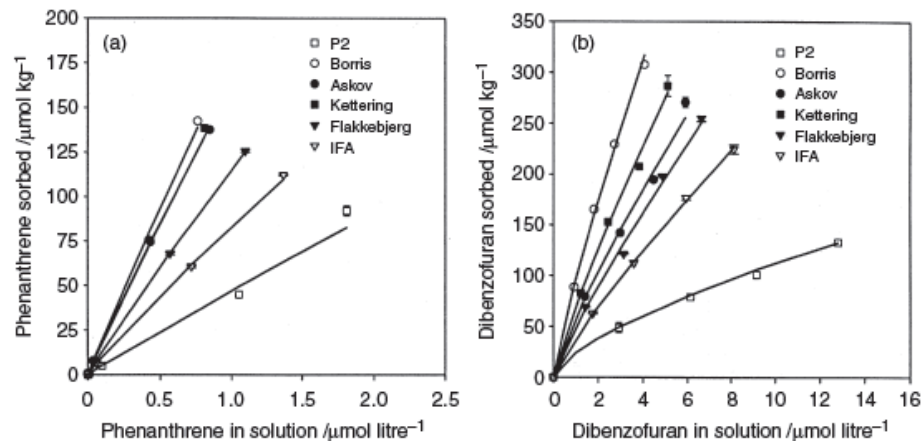


Figure 2 Phenanthrene (a) and dibenzofuran (b) sorption isotherms on soil samples. Symbols are experimental data points and lines are the Freundlich-fit sorption isotherms.

Table 2 Sorption coefficients for phenanthrene and dibenzofuran sorption on soils^a

Soil	Phenanthrene			Dibenzofuran		
	K_f / $\mu\text{mol}^{-n} \text{litre}^n \text{kg}^{-1}$	n	K_d / litre kg^{-1}	K_f / $\mu\text{mol}^{-n} \text{litre}^n \text{kg}^{-1}$	n	K_d / litre kg^{-1}
P2	47 (44–50) ^b	0.95 ± 0.01 ^c	42 ± 3	24 (22–25) ^b	0.67 ± 0.02	14.5 ± 4.3
Flakkebjerg	115 (112–119)	0.92 ± 0.01	128 ± 4	49 (45–53)	0.86 ± 0.06	44.5 ± 1.8
Askov	163 (155–171)	0.93 ± 0.01	176 ± 5	59 (55–62)	0.83 ± 0.05	49.4 ± 4.3
Borris	180 (174–187)	0.94 ± 0.01	208 ± 3	96 (93–99)	0.85 ± 0.03	71.5 ± 3.7
IFA	83 (81–84)	0.89 ± 0.01	91 ± 2	39 (38–40)	0.84 ± 0.01	31.0 ± 5.1
Kettering	164 (153–175)	0.95 ± 0.01	188 ± 8	70 (67–73)	0.85 ± 0.04	57.1 ± 4.9

^a K_f and n are the Freundlich constants, whereas K_d and K_{d-oc} are distribution coefficients measured at the single initial concentrations 2 μM for phenanthrene and 10 μM for dibenzofuran. ^bValues in parentheses are standard error ranges. ^cValue ± standard error.

sorption of both compounds similarly. Normalization of phenanthrene and dibenzofuran K_d values to the organic C content of the soils reduced variability between soils; however, the resulting K_{d-oc} values still showed considerable variability (Table 2). This supported the idea that the amount of organic C alone cannot account for the different sorptive properties of the soils.

Sorption by soil clay fractions

Relevant physicochemical characteristics of purified soil clay-size fractions and sorption coefficients for phenanthrene and dibenzofuran are summarized in Table 4. It should be noted that for all soils the percentage of clay-size fraction recovered was smaller than that determined in soil texture analysis (Table 1). This indicated that some clay-size particles were probably removed with larger particles during fractionation. The soil clay fractions had similar pH, but differed largely in their organic C content (0.99–23.94%) and clay mineralogy. Compared with the whole soils (Table 1), all clay fractions were enriched in organic C. Notably large was the organic C content of the clay fraction of the Borris soil (nearly 24%).

Table 3 Correlation between phenanthrene and dibenzofuran K_d values and soil properties

Soil property	Correlation coefficient (r)	
	Phenanthrene	Dibenzofuran
Sand	0.213	0.174
Silt	0.064	0.131
Clay	-0.545	-0.556
Organic C	0.666	0.655
CEC	-0.733	-0.702
pH	-0.838*	-0.767
N ₂ -SSA	-0.641	-0.660
EGME-SSA	-0.040	-0.069

*Statistically significant at the $P < 0.05$ level.

X-ray diffraction revealed that the phyllosilicate content of the Borris soil was very small; just traces of kaolinite and illite-mica were identified. Montmorillonite and kaolinite predominated in the clay fraction of P2 and Kettering soils, respectively. The Askov soil had the most heterogeneous clay fraction, containing significant amounts of kaolinite, illite-mica, and montmorillonite-vermiculite displaying some resistance to swelling. Therefore, the clay fraction of the soils covered a wide range of organic C contents (wider than the bulk soils) and mineralogical characteristics (Table 4).

Phenanthrene and dibenzofuran distribution coefficients, K_d , on soil clay fractions were strongly correlated with the organic C content ($r = 0.99$, $P < 0.01$) and, consequently, inversely correlated with the amount of inorganic clay constituents (Table 4). In spite of this, normalization of sorption coefficients to the organic C content revealed smaller K_{d-oc} values for the clay fractions containing smaller amounts of organic C (i.e. more mineral fraction). The phenanthrene K_{d-oc} decreased from 21 020 for the soil clay fraction containing 23.94% organic C (Borris) to 8590 for the soil clay fraction containing 0.99% organic C (P2 soil). A similar trend was observed for dibenzofuran (Table 4). As for the whole soils, K_{d-oc} values obtained for phenanthrene were about three times greater than those obtained for dibenzofuran. On the other hand, these K_{d-oc} values on soil clay fractions were considerably greater than those measured on the bulk soils.

Sorption by model sorbents

Phenanthrene sorption to organic materials differed considerably depending on the source of the organic matter (Table 5). The phenanthrene K_{d-oc} values were in the range 1340–16 070 $\text{litre kg}^{-1} \text{C}$, with a mean value of 9590. Interestingly, this mean value is very close to the mean K_{d-oc} value of the soils (9466, Table 2) and considerably less than the mean K_{d-oc} value of the clay fractions (14 280, Table 4). Another interesting feature of Table 5, is the considerable phenanthrene sorption by Aldrich HA (HA1) compared with soil-extracted

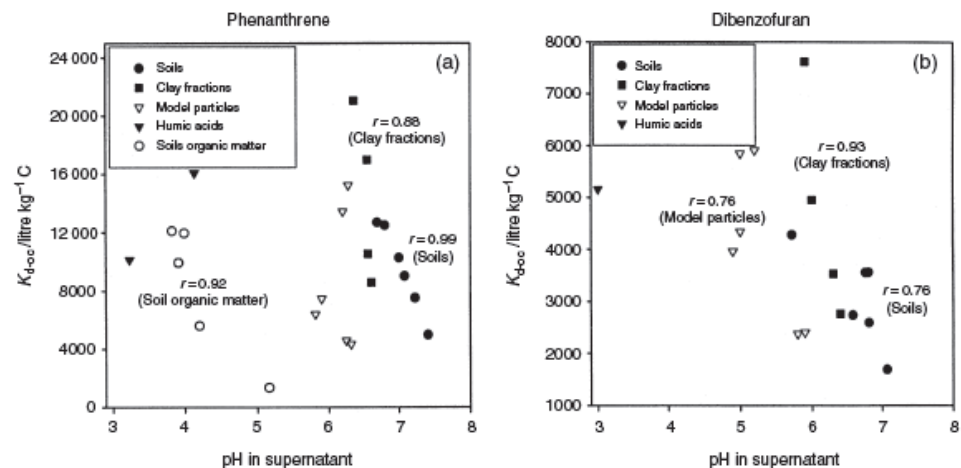


Figure 3 K_{d-oc} values against suspension pH for phenanthrene (a) and dibenzofuran (b) sorption by the different sorbents assayed.

organic materials. Similar results were found by Laor *et al.* (1998), who suggested that the great affinity of Aldrich humic acid for phenanthrene compared with that displayed by soil-extracted organic materials could be due to its great degree of aromaticity.

Phenanthrene and dibenzofuran distribution coefficients on single, binary, and ternary model sorbents (Table 6) revealed that the affinity of the organic compounds for the three main active soil constituents decreased in the order: HA2 >> SW > ferrihydrite. The most interesting features of Table 6 are: (i) the sorption coefficients obtained for phenanthrene and dibenzofuran on HA2 being two orders of magnitude greater than those measured on mineral constituents (SW and ferrihydrite), and (ii) the increase in sorption caused by the presence of HA2 in binary and ternary particles. These results clearly illustrated the dominant role of SOM on the sorption of phenanthrene and dibenzofuran by the model particles. Meanwhile, dibenzofuran showed greater K_d values on the mineral constituents (SW and ferrihydrite) than phenanthrene, and a smaller K_d value on HA2, which can be attributed to the greater polarity of dibenzofuran, associated with the presence of an oxygen atom in its structure (Figure 1) (Chiou & Kile, 1994; Xing, 2001). It is also worthy to note that there was a general increase in the sorption coefficients from binary to ternary organomineral particles (Table 6).

Another interesting feature in Table 6 is the small K_{d-oc} values calculated from the phenanthrene and dibenzofuran distribution coefficients on binary particles containing HA2 (particularly on ferrihydrite-HA2 particles) compared with those calculated for pure HA2, which suggests a reduction in the sorptive properties of HA2 after association with the

minerals. In a previous paper, we found that association of HA2 with ferrihydrite resulted in substantial blockage of functional groups of HA2 responsible for sorption of heavy metals (Cruz-Guzmán *et al.*, 2003). Similarly, a reduction in the availability of HA2 domains involved in the sorption of phenanthrene and dibenzofuran (i.e. hydrophobic regions) could have also occurred. Interestingly, this decrease in the K_{d-oc} value was not observed in ternary particles (Table 6). We believe that in ternary particles the reduction of associated HA2 sorption ability could have been obscured by the considerable sorption by the blank SW-ferrihydrite-HA2₀ sample ($K_d = 36$ litre kg^{-1} for phenanthrene and 64 litre kg^{-1} for dibenzofuran, Table 6). The importance of using blank samples should thus be emphasized as these help to distinguish the actual association effects from other changes produced in the constituents during the synthesis of the associations (Celis *et al.*, 1998; Cruz-Guzmán *et al.*, 2003).

Discussion

The importance of SOM in the sorption of HOCs is well documented (Hamaker & Thompson, 1972; Chiou & Kile, 1994; Fall *et al.*, 2003), and is clearly reflected in our experiments by the large K_d values measured for phenanthrene and dibenzofuran on purified soil organic materials compared with those measured on mineral model sorbents (Tables 5 and 6). The strong correlation found between the phenanthrene and dibenzofuran sorption coefficients on soil clay fractions and their organic C contents ($r = 0.99$, $P < 0.01$) also indicates a primary role of organic matter in the retention of both compounds (Table 4). However, the weak relationship between the

Table 4 Characteristics of selected soil clay fractions and sorption coefficients for phenanthrene and dibenzofuran

Soil clay	Amount recovered	Organic C		Organic matter ^a %	Clay inorganic components ^b	N ₂ SSA /m ² g ⁻¹	Mineralogy ^c	Phenanthrene			Dibenzofuran		
		Organic C	Organic C					pH	K _d /litre kg ⁻¹	K _{d-oc} /litre kg ⁻¹	pH	K _d /litre kg ⁻¹	K _{d-oc} /litre kg ⁻¹
Bornis	< 2	23.94 ± 0.10 ^d	41.2 ± 0.2	58.8 ± 0.2	12 ± 1	K and I (traces)	6.4	5031 ± 53	21 020	5.9	1824 ± 55	7620	
Askov	5	6.38 ± 0.07	11.0 ± 0.1	89.0 ± 0.1	28 ± 2	K (38%), I (24%), M/V (37%)	6.6	1085 ± 14	17 010	6.0	316 ± 1	4950	
Kerteling	15	3.30 ± 0.08	5.7 ± 0.1	94.3 ± 0.1	57 ± 1	K (80%), I (10%), M (10%)	6.6	346 ± 12	10 480	6.4	91 ± 1	2760	
P2	15	0.99 ± 0.04	1.7 ± 0.1	98.3 ± 0.1	109 ± 1	M (62%), K (22%), I (15%)	6.6	85 ± 8	8 590	6.3	35 ± 10	3540	

^aEstimated from the organic C content using a conversion factor of 1.72 (Hamaker & Thompson, 1972). ^bCalculated by difference. ^cK, kaolinite; I, illite or mica; M, montmorillonite; V, vermiculite. ^dMean ± standard error.

sorption coefficients for phenanthrene and dibenzofuran and the organic C content of the bulk soils (Table 3), along with the differences in K_{d-oc} values among the soils, clay fractions, and model sorbents, are indicative that sorption cannot be predicted exclusively from the organic C content of the samples (Pusino *et al.*, 1992).

One major cause for the different organic C-normalized sorption capacities of soils and sediments has been proposed to be organic matter heterogeneity (Karapanagioti *et al.*, 2000; Xing, 2001; Huang *et al.*, 2003). The potential effect of organic matter characteristics on the sorption properties of our soils is illustrated by the different affinities for phenanthrene displayed by organic matter samples extracted from different sources (Table 5). Also, the greater K_{d-oc} values obtained for phenanthrene and dibenzofuran sorption on the soil clay fractions (Table 4) compared with those measured on the corresponding bulk soils (Table 2) could indicate that organic matter with great affinity for the organic compounds accumulated in the clay-size fraction of the soils. Similar differences between K_{oc} values of bulk soils and their clay-size fractions were found by Camo *et al.* (2000) for naphthalene and phenanthrene, and interpreted in terms of organic matter heterogeneity between different particle-size fractions.

Along with the influence of organic matter characteristics, the inverse relationship between phenanthrene and dibenzofuran sorption and the clay content of the soils should also be noted (Table 3). Greater amounts of inorganic constituents in the clay-size fraction of the soils were also accompanied by smaller K_{d-oc} values (Table 4). These results strongly suggest a negative effect of clay inorganic constituents on the ability of SOM to sorb phenanthrene and dibenzofuran.

Clay inorganic constituents can influence sorption of organic compounds by two principal mechanisms: (i) by enlarging the contribution of the soil mineral fraction in the retention process (Karickhoff, 1984; Onken & Traina, 1997; Broholm *et al.*, 1999), and (ii) by influencing the sorptive properties of organic matter as a result of mutual interactions that affect organic matter accessibility, sorptivity or both (Pusino *et al.*, 1992; Njoroge *et al.*, 1998; Jones & Tiller, 1999). Our results with model sorbents showed that although phenanthrene and dibenzofuran displayed some affinity for mineral constituents such as montmorillonite and ferrihydrite, K_d values were two orders of magnitude smaller than those measured on HA2 (Table 6). Consequently, the role of these minerals in sorption of phenanthrene and dibenzofuran is expected to be equal to that of HA2 in systems with HA2:mineral ratios about 1:100. This result is consistent with the estimation of Green & Karickhoff (1990) that large, non-polar organic molecules (> C₁₀) have typically more than 100 times greater affinity for soil organic C than for soil minerals, which makes the role of soil minerals in sorption insignificant in most surface soils. We believe that, except for P2 soil (clay:organic C ratio = 36), it is unlikely that mineral constituents contributed directly to the sorption of phenanthrene and

Table 5 Phenanthrene sorption coefficients on organic materials

Sorbent	Organic C /%	pH	Phenanthrene	
			K_d /litre kg ⁻¹	K_{d-oc}
HA1 (commercial humic acid)	56.5	4.1	9080 ± 833 ^a	16 070
HA2 (soil humic acid)	52.9	3.2	5363 ± 234	10 140
B _{hs} (soil organic matter)	61.4	5.2	821 ± 81	1 340
O _h S (soil organic matter)	54.1	4.2	3027 ± 433	5 590
O _h F (soil organic matter)	55.3	4.0	6611 ± 470	11 950
O _h P (soil organic matter)	59.5	3.8	7205 ± 2267	12 100
H (peat)	56.4	3.9	5601 ± 1161	9 930

^aMean ± standard error.

dibenzofuran by sorbing extensive amounts of the chemicals. This is supported by the fact that, while contribution of soil minerals to the sorption process is generally accompanied by an increase in K_{oc} value, greater amounts of clay inorganic constituents in our soils and clay fractions were generally associated with smaller K_{d-oc} values for phenanthrene and dibenzofuran (Tables 2 and 4). The only exception was dibenzofuran sorption by the clay fraction of the P2 soil (Table 4), where a small contribution of smectitic clay minerals could have occurred.

Despite the direct contribution of mineral constituents to sorption of phenanthrene and dibenzofuran in our soils being

likely to be small, it is well known that clay inorganic constituents play a major role in binding SOM, and it has been proposed that mineral-bound organic material is less accessible for the incorporation of HOCs than free organic material (Pascino *et al.*, 1992; Jones & Tiller, 1999). Hence, clay inorganic constituents could have indirectly affected the sorption properties of our soils by reducing the availability of SOM for phenanthrene and dibenzofuran sorption. This effect is clearly illustrated in the binary model particles by the smaller K_{d-oc} values obtained for phenanthrene and dibenzofuran sorption on SW- and ferrihydrite-associated HA2 compared with those obtained on HA2 (Table 6). Indeed, the large K_{d-oc} values

Table 6 Phenanthrene and dibenzofuran sorption coefficients on single, binary, and ternary model particles

Sorbent	Sorbent composition ^a				f_{oc}^b /g g ⁻¹	Phenanthrene			Dibenzofuran		
	SW	Ferrih /%	HA2			pH	K_d /litre kg ⁻¹	K_{d-oc}	pH	K_d /litre kg ⁻¹	K_{d-oc}
<i>Single sorbents</i>											
SW	100	0	0	0	0	6.4	2 ± 5 ^c	–	6.7	14 ± 6 ^c	–
Ferrih	0	100	0	0	0	5.7	< 1	–	5.9	4 ± 4	–
HA2	0	0	100	0.529	0.529	3.2	5363 ± 234	10 140	3.0	2731 ± 224	5160
<i>Binary associations</i>											
SW-Ferrih ₀ (blank)	100	0	0	0	0	6.1	30 ± 4	–	5.7	114 ± 16	–
SW-Ferrih ₃	92.7	7.3	0	0	0	5.6	12 ± 11	–	4.6	55 ± 8	–
SW-Ferrih ₁₆	86.3	13.7	0	0	0	5.3	19 ± 6	–	4.5	56 ± 14	–
SW-HA ₂₀ (blank)	100	0	0	0	0	6.5	20 ± 4	–	5.7	19 ± 2	–
SW-HA ₄	95.7	0	4.3	0.0226	0.0226	5.9	153 ± 4	6 770	5.0	98 ± 9	4340
SW-HA ₈	93.3	0	6.7	0.0354	0.0354	5.8	226 ± 1	6 380	4.9	140 ± 15	3960
Ferrih-HA ₂₀ (blank)	0	100	0	0	0	6.5	< 1	–	6.1	4 ± 4	–
Ferrih-HA ₄	0	96.3	3.7	0.0198	0.0198	6.3	90 ± 9	4 550	5.8	47 ± 8	2370
Ferrih-HA ₈	0	93.1	6.9	0.0366	0.0366	6.3	158 ± 8	4 320	5.9	88 ± 4	2400
<i>Ternary associations</i>											
SW-Ferrih-HA ₂₀ (blank)	85.2	14.8	0	0	0	6.0	36 ± 8	–	4.8	64 ± 14	–
SW-Ferrih-HA ₄	82.5	14.6	2.9	0.0154	0.0154	6.3	234 ± 9	15 190	5.2	91 ± 7	5910
SW-Ferrih-HA ₈	81.0	13.5	5.5	0.0294	0.0294	6.2	395 ± 12	13 440	5.0	172 ± 35	5850

^aSW, Wyoming montmorillonite; Ferrih, ferrihydrite; HA2, soil humic acid. ^b f_{oc} , organic C fraction. ^cMean ± standard error.

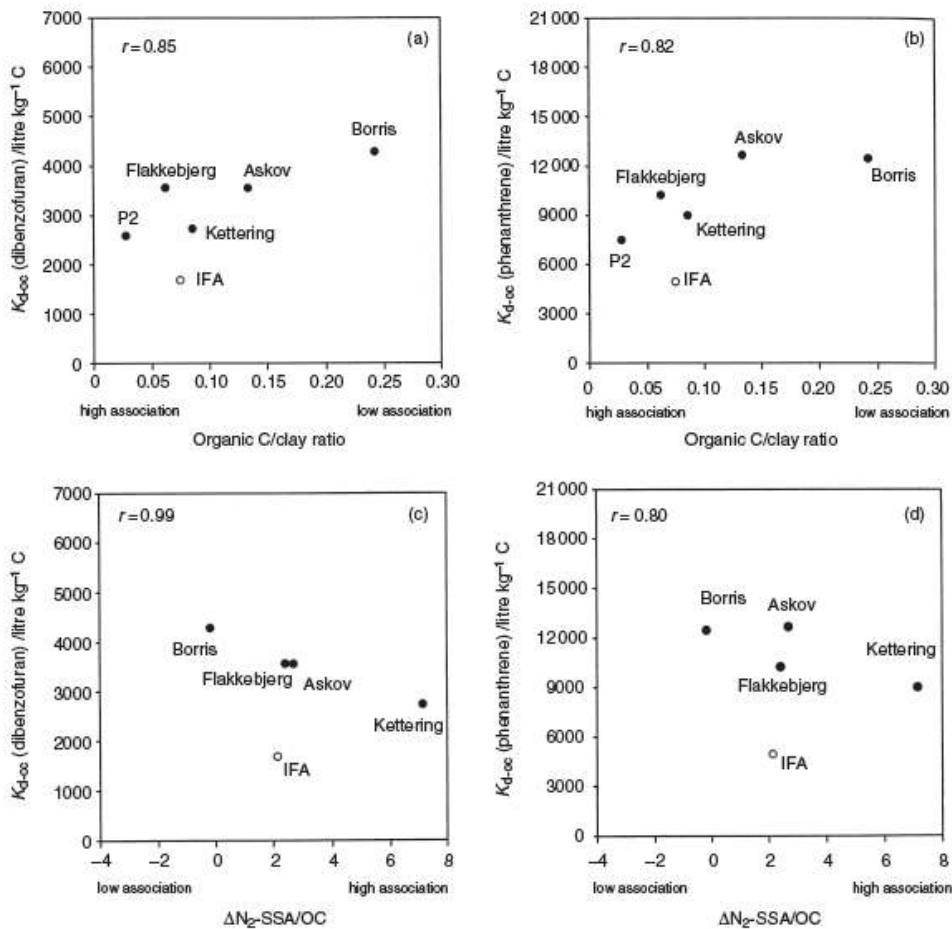


Figure 4 $K_{d-\infty}$ values for dibenzofuran (a, c) and phenanthrene (b, d) against two possible descriptors of organic matter-mineral association. Association is assumed to increase with $\Delta N_2\text{-SSA/OC}$ and to decrease with the organic C/clay ratio.

measured for soils with particularly small clay contents, such as Borris or Askov (Table 2), and also for soil clay fractions rich in organic C (Table 4), strongly suggest that clay-free SOM is more sorptive than SOM associated with clay. Another indirect effect that deserves to be noted is the increase of pH with increasing clay content in natural soils (Table 1). With increasing pH, acidic functional groups of organic matter become negatively charged, and the increasing polarity of

SOM is expected to reduce its affinity for non-polar compounds (Laor *et al.*, 1998). Indeed, phenanthrene and dibenzofuran sorption on soils was strongly negatively correlated to soil pH (Table 3). Although the intercorrelation between pH and clay content makes it difficult to separate the effects of these two variables, interestingly, an increase in $K_{d-\infty}$ values with decreasing pH was also observed for many other groups of sorbents assayed (Figure 3). A similar decrease in

phenanthrene sorption with increasing pH was observed by Laor *et al.* (1998) for mineral-associated humic acid samples.

In an attempt to represent organic matter–mineral association in the soils studied, the K_{d-oc} values obtained for our soils were plotted against two potentially useful descriptors of this association (Figure 4): (i) the organic C/clay ratio, and (ii) the increase in the N_2 -SSA of the soils after removal of SOM by calcination at 350°C (Mayer & Xing, 2001; Kaiser & Guggenberger, 2003). The first descriptor was the simplest and assumes greater association in soils with smaller organic C/clay ratios. The second descriptor assumes that the increase in N_2 -SSA (ΔN_2 -SSA) after removal of SOM by calcination corresponds to mineral surfaces that were originally coated by organic material (Mayer & Xing, 2001). We considered this increase in N_2 -SSA, normalized to the organic C content of the soil (ΔN_2 -SSA/OC), to be a measure of the fraction of organic matter associated with soil minerals. Except for the IFA soil, whose K_{d-oc} was considerably smaller than expected from its organic C/clay and ΔN_2 -SSA/OC values, quite consistent relationships were found between both descriptors and the K_{d-oc} values measured for phenanthrene and dibenzofuran sorption by the soils (Figure 4). The particularly small K_{d-oc} value measured for IFA soil may be related to its high pH, which probably resulted from its carbonate content (Table 1). Besides their effect on soil pH, carbonates are known to play an important role in binding soil organic matter, which might have further contributed to reduce the sorptivity of the organic matter of IFA soil. In summary, the data presented strongly suggest that clay contributed negatively to the sorptive properties of the SOM for phenanthrene and dibenzofuran, most likely through domain blockage arising from organic matter–clay interactions and associated pH shifts.

Conclusions

Achieving a better understanding of the factors influencing the sorptivity of SOM and the variability of the parameter K_{oc} is considered important in improving predictions of sorption of HOCs in soils. The sorption behaviour of phenanthrene and dibenzofuran on six natural soils, their clay-size fractions, and a series of single, binary, and ternary model sorbents indicated that organic matter heterogeneity and domain blockage through organic matter–mineral interactions are two important factors influencing the sorptive properties of SOM for the HOCs. In the soils studied, with organic C and clay contents typical of agricultural soils, it appeared that clay had a negative effect on the sorption of phenanthrene and dibenzofuran through a combination of organic matter domain blockage and associated pH shifts. We illustrated that the development of suitable descriptors for the extent of organic matter–mineral interactions could help to improve current K_{oc} -based sorption predictions and subsequently the assessment of risk associated with the presence and transport of HOCs in soil.

Acknowledgements

This work was financed by the FP5 EU Project 'Development of a Decision Support System for Sustainable Management of Contaminated Land by Linking Bioavailability, Ecological Risk, and Ground Water Pollution of Organic Pollutants' (EVK1-CT-2001-00105) (<http://www.liberation.dk>).

References

- Ahmad, R., Kookana, R.S., Alston, A.M. & Skjemstad, J.O. 2001. The nature of soil organic matter affects sorption of pesticides. 1. Relationships with carbon chemistry as determined by ^{13}C PMAS NMR spectroscopy. *Environmental Science and Technology*, 35, 878–889.
- Broholm, M.M., Broholm, K. & Arvin, E. 1999. Sorption of heterocyclic compounds on natural clayey till. *Journal of Contaminant Hydrology*, 39, 183–200.
- Brown, G. 1961. *The X-ray Identification and Crystal Structures of Clay Minerals*. Mineral Society, London.
- Carmo, A.M., Hundal, L.S. & Thompson, M.L. 2000. Sorption of hydrophobic organic compounds by soil materials: application of unit equivalent Freundlich coefficients. *Environmental Science and Technology*, 34, 4363–4369.
- Celis, R., Comejo, J., Hermosín, M.C. & Koskinen, W.C. 1997. Sorption-desorption of atrazine and simazine by model soil colloidal components. *Soil Science Society of America Journal*, 61, 436–443.
- Celis, R., Comejo, J., Hermosín, M.C. & Koskinen, W.C. 1998. Sorption of atrazine and simazine by model associations of soil colloids. *Soil Science Society of America Journal*, 62, 165–171.
- Chiou, C.T. & Kile, D.E. 1994. Effects of polar and nonpolar groups on the solubility of organic compounds in soil organic matter. *Environmental Science and Technology*, 28, 1139–1144.
- Chiou, C.T., Peters, L.J. & Freed, V.H. 1979. A physical concept of soil-water equilibria for nonionic organic compounds. *Science*, 206, 831–832.
- Cihacek, L.J. & Bremner, J.M. 1979. A simplified ethylene glycol monoethyl ether procedure for assessment of soil surface area. *Soil Science Society of America Journal*, 43, 821–822.
- Cruz-Guzmán, M., Celis, R., Hermosín, M.C., Leone, P., Nègre, M. & Cornejo, J. 2003. Sorption-desorption of lead(II) and mercury(II) by model associations of soil colloids. *Soil Science Society of America Journal*, 67, 1378–1387.
- Fall, C., Chaouki, J., Chavarie, C. & Elena-Ortega, R. 2003. Multivariate study on phenanthrene sorption in soils. *Journal of Environmental Engineering-ASCE*, 129, 1030–1040.
- Gee, G.W. & Bauder, J.W. 1982. Particle-size analysis. In: *Methods of Soil Analysis: Part 1, Physical and Mineralogical Methods*, 2nd edn (ed. A. Klute), pp. 383–411. Agronomy Monograph No 9, American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison, WI.
- Giles, C.H., McEwan, J.H., Nakwa, S.N. & Smith, D. 1960. Studies in adsorption. Part XI. A system of classification of solution adsorption isotherms, and its use in diagnosis of adsorption mechanisms and in measurement of specific surface areas of solids. *Journal of the Chemical Society*, 3, 3973–3993.
- Green, R.E. & Karickhoff, S.W. 1990. Sorption estimates for modeling. In: *Pesticides in the Soil Environment: Processes, Impact, and*

- Modeling* (ed. H.H. Cheng), pp. 79–101. Book Series No 2, Soil Science Society of America, Madison, WI.
- Hamaker, J.W. & Thompson, J.M. 1972. Adsorption. In: *Organic Chemicals in the Soil Environment*, Volume 1 (eds C.A.I. Goring & J.W. Hamaker), pp. 49–143. Marcel Dekker, New York.
- Huang, W., Peng, P., Yu, Z. & Fu, J. 2003. Effects of organic matter heterogeneity on sorption and desorption of organic compounds by soils and sediments. *Applied Geochemistry*, **18**, 955–972.
- Hundal, L.S., Thompson, M.L., Laird, D.A. & Carmo, A.M. 2001. Sorption of phenanthrene by reference smectites. *Environmental Science and Technology*, **35**, 3456–3461.
- Jackson, M.L. 1975. *Soil Chemical Analysis: Advanced Course*. M.L. Jackson, Madison, WI.
- Jones, K.D. & Tiller, C.L. 1999. Effect of solution chemistry on the extent of binding of phenanthrene by a soil humic acid: a comparison of dissolved and clay bound humic. *Environmental Science and Technology*, **33**, 580–587.
- Kaiser, K. & Guggenberger, G. 2003. Mineral surfaces and soil organic matter. *European Journal of Soil Science*, **54**, 219–236.
- Karapanagioti, H.K., Kleinedam, S., Sabatini, D.A., Grathwohl, P. & Ligois, B. 2000. Impacts of heterogeneous organic matter on phenanthrene sorption: equilibrium and kinetic studies with aquifer material. *Environmental Science and Technology*, **34**, 406–414.
- Karickhoff, S.W. 1984. Organic pollutant sorption in aquatic systems. *Journal of Hydraulic Engineering*, **110**, 707–735.
- Laor, Y., Farmer, W.J., Aochi, Y. & Strom, P. 1998. Phenanthrene binding and sorption to dissolved and to mineral-associated humic acid. *Water Research*, **32**, 1923–1931.
- Mayer, L.M. & Xing, B. 2001. Organic matter–surface area relationships in acid soils. *Soil Science Society of America Journal*, **65**, 250–258.
- Njoroge, B.N.K., Ball, W.P. & Cherry, R.S. 1998. Sorption of 1,2,4-trichlorobenzene and tetrachloroethene within an authigenic soil profile: changes in K_{oc} with soil depth. *Journal of Contaminant Hydrology*, **29**, 347–377.
- Onken, B.M. & Traina, S.J. 1997. The sorption of pyrene and anthracene to humic acid–mineral complexes: effect of fractional organic carbon content. *Journal of Environmental Quality*, **26**, 126–132.
- Pusino, A., Liu, W. & Gessa, C. 1992. Influence of organic matter and its clay complexes on metolachlor adsorption on soil. *Pesticide Science*, **36**, 283–286.
- Rhoades, J.D. 1982. Cation exchange capacity. In: *Methods of Soil Analysis: Part 2, Chemical and Microbiological Properties*, 2nd edn (eds A.L. Page, R.H. Miller & D.R. Keeney), pp. 149–151. Agronomy Monograph No 9, American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison, WI.
- Schlautman, M.A. & Morgan, J. 1993. Effects of aqueous chemistry on the binding of polycyclic aromatic-hydrocarbons by dissolved humic materials. *Environmental Science and Technology*, **27**, 961–969.
- Tabatabai, M.A. & Bremner, J.M. 1970. Use of the Leco automatic 70-record carbon analyzer for total carbon analysis of soils. *Soil Science Society of America Proceedings*, **24**, 608–610.
- Wauchope, R.D., Yeh, S., Linders, J.B.H.J., Kloskowski, R., Tanaka, K., Rubin, B. *et al.* 2002. Pesticide soil sorption parameters: theory, measurement, uses, limitations and reliability. *Pest Management Science*, **58**, 419–445.
- Xing, B. 2001. Sorption of naphthalene and phenanthrene by soil humic acids. *Environmental Pollution*, **111**, 303–309.

Desorption, Persistence, and Leaching of Dibenzofuran in European Soils

R. Celis,* M. Real, M. C. Hermosín, and J. Comejo

ABSTRACT

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their heterocyclic analogs (hetero-PAHs) represent the predominant chemical classes in many contaminated soils. Despite the fact that hetero-PAHs are more soluble and hence potentially more mobile and bioavailable than similar nonsubstituted compounds, the existing information about the fate of these compounds in the soil environment is limited. In this article, laboratory experiments were designed to assess the desorption, persistence, and leaching behavior of the hetero-PAH dibenzofuran in four European soils with different physicochemical characteristics. Previous research has shown that organic matter was important in the extent of sorption of dibenzofuran by the soils studied, although sorption was not predictable exclusively from the organic carbon content. Dibenzofuran desorption isotherms showed little hysteresis, in particular from higher equilibrium points of the sorption isotherms, indicating weak interaction mechanisms between dibenzofuran and the soil. The half-life of dibenzofuran in the soils during incubation experiments ranged between 5 and 55 d, depending on soil type and experimental conditions. In general, the persistence of dibenzofuran decreased with the organic carbon content of the soils (0.56–2.09%) and with temperature (4°C/20°C) and increased with the initial concentration of the chemical in soil (10 mg kg⁻¹/100 mg kg⁻¹). Leaching tests, performed in hand-packed and undisturbed soil columns, indicated that dibenzofuran is likely to move slowly through the soil profile, although dissolved organic matter and soil structure can influence the amount of dibenzofuran leached. The effect of dissolved organic matter on leaching of dibenzofuran was found to be soil dependent and less important than the effect of soil structure.

Soil and ground water contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their heterocyclic analogs (hetero-PAHs) containing N, S, or O is a widespread problem in industrialized countries. These organic compounds represent the predominant chemical classes in soil of former coal gasification sites, tar oil distillation plants, and wood-preserving facilities (Meyer and Steinhart, 2001). Oil spills, leakages, and pyrolytic sources, such as incomplete combustion, significantly contribute to the input of these chemicals into the environment (Traulsen et al., 1999). Soils contaminated with creosote, a product of high-temperature treatment of hard coal, contain hundreds of different organic compounds where PAHs constitute about 85%, hetero-PAHs 5–15%, phenolic compounds 1–10%, and monoaromatic hydrocarbons < 1% (Broholm et al., 1999; Meyer et al., 1999).

Because of the presence of the heteroatom, hetero-PAHs have larger water solubilities than the corresponding PAHs (Meyer et al., 1999), which may result in

greater mobility and bioavailability compared with similar nonsubstituted compounds. For instance, when water comes in contact with creosote, polar compounds are enriched in the aqueous phase, and the fraction of hetero-PAHs increases to 35 to 40%, whereas the fraction of PAH compounds decreases to about 15% (Kiilerich and Arvin, 1996; Broholm et al., 1999). Therefore, regarding ground water contamination arising from contaminated soils, hetero-PAHs usually represent a larger problem than PAHs (Johansen et al., 1997; Broholm et al., 1999). In fact, high concentrations of hetero-PAHs, such as thiophene, benzothiophene, dibenzothiophene, benzofuran, dibenzofuran, pyridines, quinolines, indole, and carbazole, have been detected in ground water at creosote-contaminated sites (Johansen et al., 1997). In addition, the larger presence of these compounds in the aqueous phase compared with nonsubstituted compounds enhances their bioavailability and consequently the risk of ecological and human effects. In this regard, a number of hetero-PAHs have been reported to display toxic, mutagenic, and carcinogenic properties, even when present in low concentrations (Meyer et al., 1999).

Although they can be more mobile and bioavailable than their nonsubstituted analogues little is known about the environmental fate of hetero-PAHs (Traulsen et al., 1999; Meyer and Steinhart, 2000). In fact, the heteroaromatic compounds containing nitrogen, sulfur, or oxygen in the aromatic ring are not normally included in the chemical analysis of contaminated sites. The polar metabolites from the degradation of creosote are not usually analyzed (Kiilerich and Arvin, 1996). Extensive knowledge about the environmental fate of the more hydrophilic fraction of compounds present in contaminated soils has been stressed as important in improving risk assessments and success evaluation of remediation technologies (Langbehn and Steinhart, 1994; Meyer et al., 1999; Vila et al., 2003).

The present study was designed to provide insight into the fate of an oxygen-substituted hetero-PAH (dibenzofuran) in four European soils differing in their physicochemical characteristics. The sorption behavior of dibenzofuran in a number of soils, including those selected for this study, was reported in a previous article (Celis et al., 2006). Here, batch, incubation, and column leaching tests were designed to assess the desorption, persistence, and leaching behavior of dibenzofuran in selected soils. Because dissolved organic matter can strongly influence the transport of hydrophobic organic compounds, such as PAHs and related compounds, by formation of dissolved organic matter (DOM)-solute complexes (Rav-Acha and Rebhun, 1992; Sabbah et al.,

Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla, CSIC, Avda Reina Mercedes 10, P.O. Box 1052, 41080 Sevilla, Spain. Received 14 Sept. 2005. *Corresponding author (rcelis@irnase.csic.es).

Published in Soil Sci. Soc. Am. J. 70:1310–1317 (2006).

Soil Chemistry
doi:10.2136/sssaj2005.0304
© Soil Science Society of America
677 S. Segoe Rd., Madison, WI 53711 USA

Abbreviations: BTC, breakthrough curve; DOM, dissolved organic matter; HPLC, high-performance liquid chromatography; PAHs, polycyclic aromatic hydrocarbons.

2004), the effect of dissolved organic matter on dibenzofuran leaching was also investigated.

MATERIALS AND METHODS

Chemical and Soils

Dibenzofuran ($C_{12}H_8O$) is a three-ring heteroaromatic compound of molecular weight 168 g mol^{-1} and water solubility about 5 mg L^{-1} at 25°C (Fig. 1). Dibenzofuran of purity > 99%, purchased from Sigma (Madrid, Spain), was used in this study.

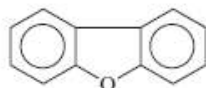
Four agricultural soils from different edaphoclimatic regions of Europe were selected for this study. The soils were sampled from the top 0- to 20-cm layer, air dried, and passed through a 2-mm aperture sieve before their use in the experiments. Relevant physicochemical characteristics of the soils are given in Table 1. The procedures followed for soil characterization are described in Celis et al. (2006).

Sorption-Desorption Experiments

Dibenzofuran sorption-desorption isotherms on soils were obtained by the batch equilibration procedure using glass centrifuge tubes closed with Teflon caps. Triplicate soil aliquots (0.5 g) were equilibrated with 10 mL of aqueous solutions of dibenzofuran by gently rotating in an end-over-end shaker (30 rpm) at $20 \pm 2^\circ\text{C}$ for 24 h. A preliminary kinetic experiment showed that an apparent equilibrium was reached within 24 h and that no significant degradation occurred during this period. Initial dibenzofuran solutions (5, 10, 15, and $20 \mu\text{M}$) were prepared in 10 mM CaCl_2 from a stock 10 mM dibenzofuran solution prepared in acetone. The amount of acetone in the initial dibenzofuran solutions was therefore < 0.2%. After equilibration, the suspensions were centrifuged at $5000 \times g$ for 1 h, and 5 mL of the supernatant solution was removed using a glass pipette for subsequent analysis by high-performance liquid chromatography (HPLC) as described below. The amount of dibenzofuran sorbed was calculated by difference between the initial and final solution concentrations. Initial solutions without soil were shaken for 24 h and served as controls.

Desorption was measured immediately after sorption from the two equilibrium points of the sorption isotherms corresponding to the initial concentrations 10 and $20 \mu\text{M}$. The 5 mL of supernatant removed for the sorption analysis were replaced with 5 mL of 10 mM CaCl_2 solution. After shaking at $20 \pm 2^\circ\text{C}$ for 24 h, the suspensions were centrifuged, and the concentration of dibenzofuran was determined in the supernatant. This desorption procedure was repeated three times. All sorption and desorption experiments were conducted in triplicate.

Sorption-desorption isotherms were fitted to the Freundlich equation: $C_s = K_f C_{eq}^n$, where C_s ($\mu\text{mol kg}^{-1}$) is the amount of chemical sorbed at the equilibrium concentration C_{eq} ($\mu\text{mol L}^{-1}$), and n (unitless) and K_f ($\mu\text{mol}^{1-n} \text{ L}^n \text{ kg}^{-1}$) are the empirical Freundlich constants, which can be calculated from the



Dibenzofuran

Fig. 1. Molecular structure of dibenzofuran.

Table 1. Physicochemical characteristics of the soils used.

Soil property	P2	Askov	Borris	Kettering
Country of origin	Spain	Denmark	Denmark	UK
Soil texture†	SCL	SL	SL	SCL
Sand‡, %	68.4	68.4	69.8	47.2
Silt‡, %	10.4	18.8	20.5	24.7
Clay‡, %	20.3	10.4	6.9	24.5
Inorganic C, %	<0.1	ND§	ND	<0.1
Organic C, %	0.56	1.39	1.67	2.09
CEC¶, cmol kg^{-1}	22.8	10.6	11.8	19.2
pH	7.3	6.3	6.4	6.7

† SCL, sandy clay loam; SL, sandy loam.

‡ Differences between the sum sand + silt + clay and 100% correspond to the organic matter + carbonate content of the soils.

§ ND, not detected.

¶ CEC, cation exchange capacity.

linear plot of $\log C_s$ against $\log C_{eq}$. Hysteresis coefficients, H , were calculated according to $H = n_{des}/n$, where n and n_{des} are the Freundlich n constants obtained from the sorption and desorption isotherms, respectively (Barruso et al., 1994; O'Connor et al., 1980).

When sorption was determined at a single initial concentration of $10 \mu\text{M}$, a distribution coefficient, K_d (L kg^{-1}), was calculated by dividing the amount of chemical sorbed, C_s ($\mu\text{mol kg}^{-1}$), by the equilibrium solution concentration, C_{eq} ($\mu\text{mol L}^{-1}$).

Incubation Experiment

The dissipation curves of dibenzofuran in the different soils were obtained by means of an incubation experiment in which the soils (500 g) were spiked with dibenzofuran at two different concentrations (10 and 100 mg kg^{-1} air-dried soil), following a spiking protocol based on that proposed by Brinch et al. (2002). Briefly, a subsample of 25% of the air-dried and sieved soil (125 g) was wetted with 60 mL distilled water and spiked with 15 mL of an acetone solution of dibenzofuran (2 or 20 mM) to give the final concentrations of 10 and 100 mg kg^{-1} soil. The spiked 125 g-soil aliquot was thoroughly homogenized, and the acetone was allowed to evaporate for 16 h. After evaporation of the solvent, the remaining 75% of the soil (375 g) was mixed with the spiked soil subsample by adding sequentially three portions of 125 g of unspiked soil. To compensate for the solvent lost during evaporation, the moisture content was re-adjusted to 15% (w/w) with distilled water. The spiked soils were incubated in glass jars at two different temperatures (4 and 20°C) for 72 d. The moisture content was maintained at a constant level throughout the experiment by adding distilled water as necessary. The soils were sampled periodically and frozen until analyzed. Dibenzofuran was extracted by shaking 10 g of duplicate soil samples with 15 mL of acetonitrile for 24 h, and the extracts were analyzed by HPLC. A preliminary experiment showed that this extraction procedure recovered > 95% of the dibenzofuran freshly applied to the soils.

Leaching Experiments

We studied leaching of dibenzofuran under hand-packed (homogeneous) and undisturbed soil conditions. The effect of dissolved organic matter on leaching of dibenzofuran was also investigated. The hand-packed soil columns consisted of 20-cm length \times 3-cm i.d. glass columns filled with air-dried and sieved soil (P2, Askov, Borris, and Kettering). Glass wool plus 10 g of sea sand was placed on the bottom of the columns to prevent losses of soil and contamination of leachates with soil particles. The columns were hand-packed with 180 g of soil, and 10 g of sea sand was placed on the soil surface. The undisturbed soil columns consisted of 20-cm length \times 20-cm i.d. PVC col-

umns filled with undisturbed P2 soil, taken from the field plot located in Sevilla (Spain). The hand-packed and undisturbed columns were saturated with water and allowed to drain for 24 h, and the amount of dibenzofuran corresponding to an application rate of 10 or 100 kg ha⁻¹ was applied to the top of the columns dissolved in acetone. After application of the chemical, the columns were leached with 20 mm d⁻¹ of distilled water or a dissolved organic matter extract for 20 d. The dissolved organic matter extract consisted of a diluted commercial humic amendment (Liquid Fertimont, Fertilizantes Montañó, Spain) containing an amount of dissolved organic C of approximately 6 g L⁻¹ (Cox et al., 2000). Leachates from the hand-packed and undisturbed soil columns were collected daily and analyzed by HPLC. At the end of the leaching experiment, soil samples of approximately 50 g were taken from different depths of the columns (0–5, 5–10, 10–15, and 15–20 cm depth) and extracted once with 100 mL of acetonitrile by shaking mechanically at 20 ± 2°C for 24 h. The suspensions were centrifuged (30 min at 5000 × g), filtered, and analyzed by HPLC to determine the amount of dibenzofuran at different depths of the soil columns. All leaching experiments were conducted in triplicate.

Analysis of Dibenzofuran

Dibenzofuran was determined by HPLC using a Waters 600E chromatograph coupled to a Waters 996 diode-array detector.

The following chromatographic conditions were used: Novapak C18 column (150 mm length × 3.9 mm i.d.) (Waters), acetonitrile/water (70:30) eluent mixture at a flow rate of 1 mL min⁻¹, 25-μL injection volume, and UV detector at 280 nm. External calibration curves with standard solutions of dibenzofuran between 1 and 500 μM were used in the calculations.

RESULTS AND DISCUSSION

Sorption–Desorption

The sorption behavior of dibenzofuran by a number of soils, including those selected for this work, has been reported in detail by Celis et al. (2006). The results indicated that organic matter plays a primary role in the sorption of dibenzofuran, although sorption was not predictable exclusively from the organic C content of the soils. Thus, soils with greater clay contents (Kettering and P2) were found to present smaller organic C-normalized sorption coefficients, K_{oc} , than those containing less amount of clay (Borris and Askov). Organic matter heterogeneity and domain blockage arising from organic matter-clay interactions and associated pH shifts seemed to be the most likely causes of the different K_{oc} values for the soils (Celis et al., 2006).

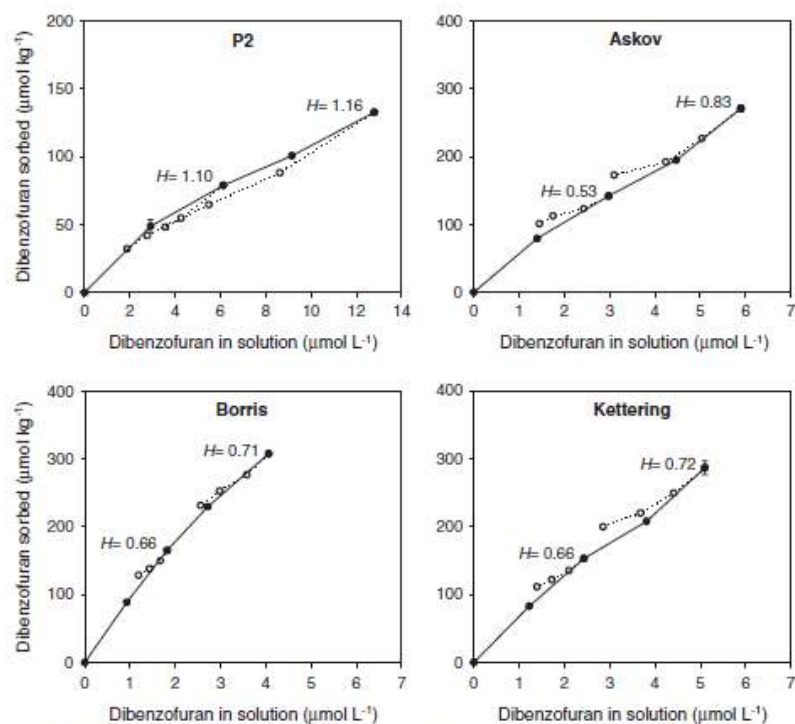


Fig. 2. Dibenzofuran sorption–desorption isotherms on soils and hysteresis coefficients, $H = n_{des}/n$, calculated at two points of the sorption isotherms.

Dibenzofuran desorption isotherms showed little hysteresis with $H (= n_{des}/n)$ values ≥ 0.53 (Fig. 2), indicating that weak interaction mechanisms predominate between dibenzofuran and the soils. For all four soils, the hysteresis coefficient (H) corresponding to the initial concentration $10 \mu\text{M}$ was found to be smaller than that measured at the initial concentration $20 \mu\text{M}$ (Fig. 2). This behavior has been observed for the sorption of other organic compounds in soil and has been attributed to sorption site heterogeneity, where the existing irreversible, high-energy sorption sites are occupied first (i.e., at lower concentration) (Celis and Koskinen, 1999; Albarrán et al., 2003). Nevertheless, for the Askov, Borris, and Kettering soils, hysteresis was evident at the last desorption steps only (Fig. 2). Taking into account that appreciable degradation of dibenzofuran occurred in these soils within 3 to 5 d, in particular at low concentration of dibenzofuran (see below), degradation could have contributed to the observed hysteresis during the last desorption steps (Koskinen et al., 1979).

Persistence

Dissipation curves for dibenzofuran in the four soils at two temperatures and two spiking concentrations are given in Fig. 3. The sigmoidal shape of the dissipation curves are typical of degradation of compounds used as

microbial growth substrate (Kearney et al., 1997), with lag periods ranging from 3 to 50 d depending on soil type, temperature, and spiking concentration. According to Fig. 3, the half-life of dibenzofuran in the soils tested ranges from about 5 to 55 d, depending on soil type and experimental conditions. In general, degradation of dibenzofuran occurred faster in the Kettering soil and slower in the P2 soil (except at $4^\circ\text{C}/100 \text{ mg kg}^{-1}$), presumably reflecting differences in the microbial activity of these soils as a result of their different organic matter contents (Table 1). The degradation curves for dibenzofuran in the Askov and Borris soils, with similar organic matter contents, were similar. The persistence of dibenzofuran in all four soils decreased with temperature ($4^\circ\text{C}/20^\circ\text{C}$) and increased with the initial concentration of the chemical in soil ($10 \text{ mg kg}^{-1}/100 \text{ mg kg}^{-1}$). Therefore, the soil organic matter content, initial concentration of dibenzofuran, and temperature were important factors determining the persistence of dibenzofuran in the soils studied.

Leaching

Less than 0.03% of the dibenzofuran applied to the hand-packed soil columns was recovered in the leachates. At the end of the leaching experiment (i.e., after application of 400 mm of water within a 28-d period) and

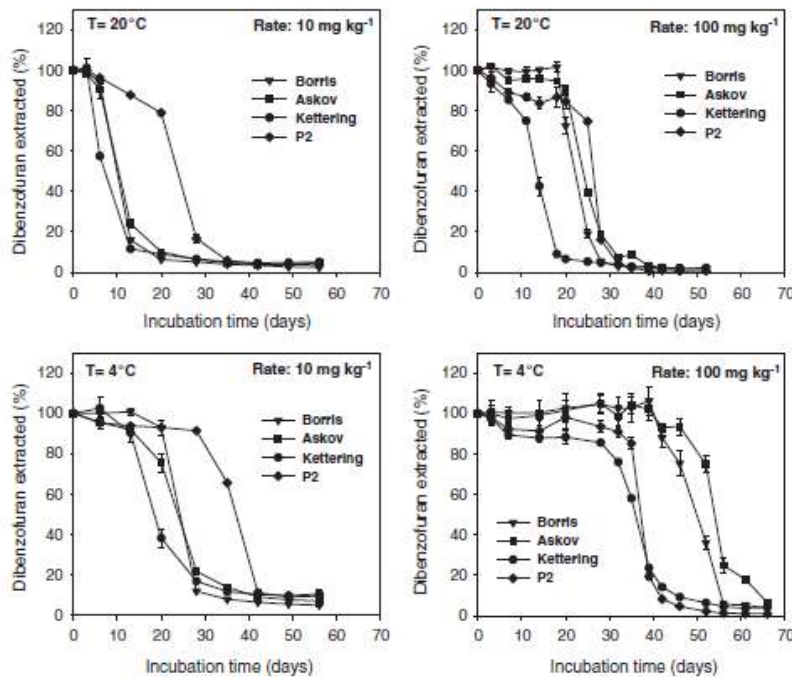


Fig. 3. Dissipation curves of dibenzofuran in soils at different temperatures and initial concentrations.

for the two application rates tested (10 and 100 kg ha⁻¹), dibenzofuran accumulated in the top 0 to 10 cm of the soils (Fig. 4). The P2 soil also presented an appreciable amount of dibenzofuran in the 10- to 15-cm soil layer. These results reflect a slow movement of dibenzofuran along the soil columns. The slightly greater breakthrough of dibenzofuran in the low organic matter content P2 soil can be related to the low sorption of dibenzofuran by this soil (Celis et al., 2006).

The total amounts of dibenzofuran extracted from the hand-packed soil columns at the end of the leaching experiment (Fig. 4) ranged from 12 to 65% of the amount applied for the experiment at 10 kg ha⁻¹ and from 27 to 87% when dibenzofuran was applied at 100 kg ha⁻¹. For all four soils, the percentage of dibenzofuran recovered from the soil columns at the end of the leaching experiment increased with the amount applied. Assuming the amounts not recovered are due to degradation of the organic compound during the leaching experiment, degradation of dibenzofuran was exacerbated at the lower application rate. This finding agrees with the results of the incubation experiment (Fig. 3) and with the effect of the application rate on the degradation of organic compounds in soil reported by other authors (Gan et al., 1995; Beigel et al., 1999). Also in accordance with the incubation results, degradation of dibenzofuran during column leaching was greatest for the Kettering soil. Nevertheless, taking into account the

duration of the leaching experiment (28 d), degradation of dibenzofuran under column leaching conditions seemed to be less pronounced than that observed after the same experimental period in the static incubation test at 20°C (Fig. 3). Similar differences in persistence under batch and column leaching conditions have been reported, suggesting that the persistence of contaminants during soil leaching processes can be greater than expected from measurements conducted in static batch systems (Evans, 1998; Celis et al., 2005).

Dissolved organic matter influenced the leaching of dibenzofuran through hand-packed columns of the Borris and P2 soils, but the effect was soil dependent. Thus, DOM enhanced the amount of dibenzofuran leached when added to the Borris soil, but it reduced the leaching of the compound when added to the P2 soil (Fig. 5). To explain this result, we should consider that DOM can exert two different effects on the sorption of organic solutes by sorbent surfaces (Rav-Acha and Rebhun, 1992; Celis et al., 1998): (i) reduction in sorption due to solubilization effects and competition on sorbent sites and (ii) enhancement of sorption when the solute-DOM complex has a greater affinity to the sorbent than the organic solute itself. In fact, we determined a K_d value for dibenzofuran (initial concentration 10 μ M) in the Borris and P2 soils in the presence and absence of the DOM extract and found that DOM reduced the K_d value of dibenzofuran in the Borris soil

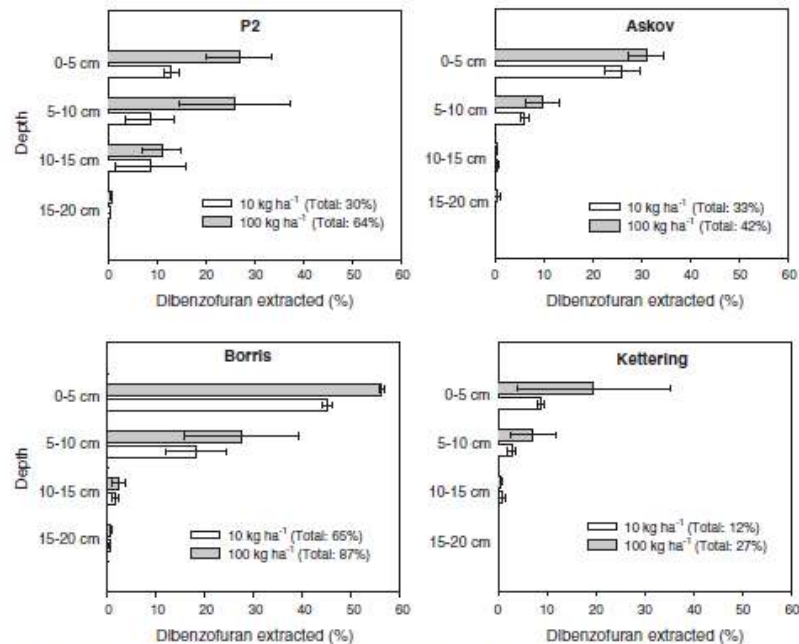


Fig. 4. Dibenzofuran extracted from different depths of hand-packed soil columns at the end of the leaching experiment.

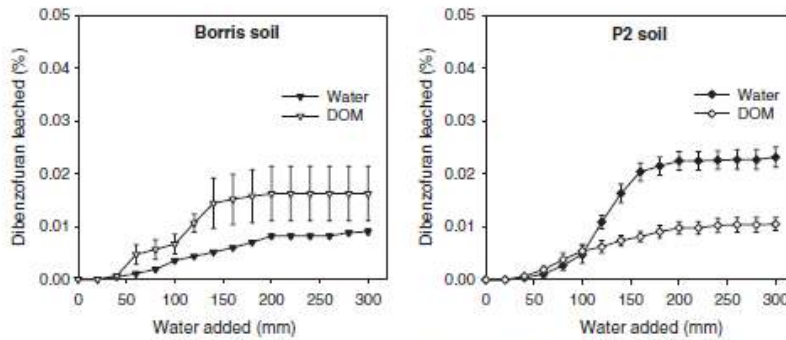


Fig. 5. Cumulative breakthrough curves (BTCs) of dibenzofuran in hand-packed columns of Borris and P2 soils eluted with water and with dissolved organic matter (DOM). Dibenzofuran was applied at 100 kg ha⁻¹ in all cases.

(from 63 to 45 L kg⁻¹) but led to an increase in the *K_d* value of dibenzofuran in the P2 soil (from 17 to 33 L kg⁻¹). Previously, an increase in the aqueous solubility of dibenzofuran from 4.4 mg L⁻¹ (in water) to 13.2 mg L⁻¹ (in the DOM extract) demonstrated the interaction between the organic compound and the DOM. These results strongly suggest that facilitated transport of dibenzofuran as DOM-pollutant complexes operated in Borris soil, whereas preferential sorption of those complexes by soil particles operated in P2 soil, reducing the leaching of the organic compound (Fig. 6). The most likely cause of the different behavior observed for the Borris and P2 soils is their different clay content (Table 1) because clay is known to be a major component in binding to DOM and in reducing the movement of DOM through the soil profile (Cornojo and Hermosín, 1996; Shen, 1999; Cox et al., 2000).

Figure 7 shows the breakthrough curves (BTCs) for dibenzofuran (100 kg ha⁻¹) in undisturbed columns of the P2 soil eluted with water and with DOM. For comparison purposes, the BTC of dibenzofuran in hand-

packed columns of the P2 soil has been included in Fig. 7. The total amount of dibenzofuran recovered in leachates from the undisturbed soil columns was small (0.54% of the amount applied to the top of the columns), revealing little leaching of the compound (Table 2). Nevertheless, this amount was about 25 times greater than that observed under hand-packed conditions (0.023%). This result strongly suggests that preferential flow through macropores can be a major mechanism for dibenzofuran leaching through soil. It also illustrates how soil manipulation can have a large effect on leaching measurements/results. The variability associated with the BTCs of dibenzofuran under undisturbed conditions (Fig. 7) can be related to the inherent heterogeneity of soil structure.

As found in hand-packed conditions, dibenzofuran accumulated in the top 0–10 cm of the undisturbed soil columns (not shown), supporting slow movement

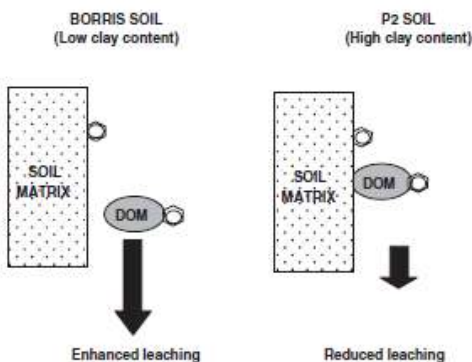


Fig. 6. Possible mechanisms operating during dibenzofuran leaching through the Borris and P2 soils in the presence of dissolved organic matter (DOM).

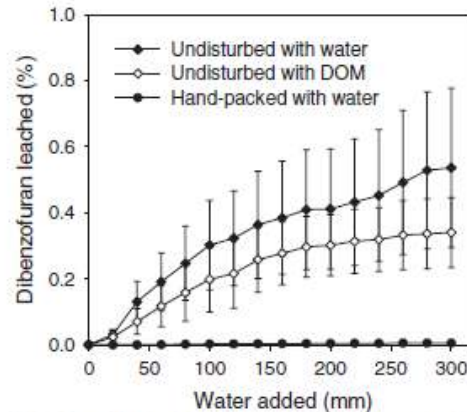


Fig. 7. Cumulative breakthrough curves (BTCs) of dibenzofuran in hand-packed (eluted with water) and undisturbed (eluted with water and with dissolved organic matter [DOM]) columns of P2 soil. The application rate was 100 kg ha⁻¹ in all cases.

Table 2. Dibenzofuran leached, extracted from the soil column, and not recovered during leaching experiments with the P2 soil

	Hand-packed columns		Undisturbed columns	
	Eluted with water	Eluted with DOM	Eluted with water	Eluted with DOM
Leached, %	0.023 ± 0.002†	0.010 ± 0.001	0.54 ± 0.24	0.34 ± 0.11
Extracted from soil, %	64 ± 17	80 ± 2	27 ± 2	45 ± 1
Not recovered, %	35.98	19.99	72.46	54.66

† Value ± standard error.

through a matrix-flow mechanism. However, the total recovery of dibenzofuran from the undisturbed soil columns (27%) was less than the amount recovered from the hand-packed soil columns (64%) (Table 2). This could have been the result of enhanced degradation of the compound under undisturbed soil conditions.

The effect of DOM on leaching of dibenzofuran under undisturbed conditions was to reduce leaching in P2 soil (Fig. 7, Table 2), as found under hand-packing conditions (Fig. 5). Nevertheless, differences were not statistically significant due to the large variability associated with the dibenzofuran BTCs in undisturbed columns (Fig. 7). As seen in Fig. 7, the effect of soil structure and the inherent spatial variability associated with the undisturbed soil columns seemed to be the major factors influencing the leaching of dibenzofuran in soil, with DOM playing a secondary role.

CONCLUSIONS

Batch, incubation, and column leaching tests were designed to characterize the fate of dibenzofuran in four European soils with different physicochemical characteristics. The persistence of dibenzofuran in the soils during incubation experiments was influenced by the soil organic matter content, temperature, and initial concentration of dibenzofuran in soil, with dibenzofuran half-lives ranging from 5 to 55 d. The relatively high sorption of dibenzofuran by the soils studied resulted in slow matrix-flow of this compound through hand-packed and undisturbed soil columns. After application of 400 mm water, the amount of dibenzofuran leached from hand-packed and undisturbed columns were small (<0.03% and <0.6%, respectively), and dibenzofuran accumulated in the top 0 to 10 cm of the soil columns. The amount of dibenzofuran leached was affected by the presence of DOM and by soil structure (homogenized/undisturbed). The effect of DOM on dibenzofuran leaching was dependent on soil type and seemed to be considerably less important compared with the effect of soil structure. On the basis of the high organic carbon content of the DOM used in this study, the leaching of dibenzofuran under field conditions is expected to be dominated by the preferential flow associated with the inherent macroporosity of the unaltered soil structure rather than by matrix flow or DOM-facilitated transport.

ACKNOWLEDGMENTS

This work has been financed by the FP5 EU Project "Development of a Decision Support System for Sustainable Man-

agement of Contaminated Land by Linking Bioavailability, Ecological Risk, and Ground Water Pollution of Organic Pollutants" (EVK1-CT-2001-00105) (<http://www.liberation.dk>) and by Research Group RNM124 of Junta de Andalucía.

REFERENCES

- Albarrán, A., R. Celis, M.C. Hermosín, A. López-Piñero, J.J. Ortega-Calvo, and J. Cornejo. 2003. Effects of solid olive-mill waste addition to soil on sorption, degradation and leaching of the herbicide simazine. *Soil Use Manage.* 19:150–156.
- Barriuso, E., D.A. Laird, W.C. Koskinen, and R.H. Dowdy. 1994. Atrazine desorption from smectites. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 58:1632–1638.
- Beigel, C., M.-P. Charney, and E. Barriuso. 1999. Degradation of formulated and unformulated triconazole fungicide in soil: Effect of application rate. *Soil Biol. Biochem.* 31:525–534.
- Brind, U.C., F. Ekelund, and C.S. Jacobsen. 2002. Method for spiking soil samples with organic compounds. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:1808–1816.
- Broholm, M.M., K. Broholm, and E. Arvin. 1999. Sorption of heterocyclic compounds on natural clayey till. *J. Contam. Hydrol.* 39:183–200.
- Celis, R., E. Barriuso, and S. Houot. 1998. Sorption and desorption of atrazine by sludge-amended soil: Dissolved organic matter effects. *J. Environ. Qual.* 27:1348–1356.
- Celis, R., and W.C. Koskinen. 1999. Characterization of pesticide desorption from soil by the isotopic exchange technique. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63:1659–1666.
- Celis, R., H. de Jonge, L.W. de Jonge, M. Real, M.C. Hermosín, and J. Cornejo. 2006. The role of mineral and organic components in phenanthrene and dibenzofuran sorption by soil. *Eur. J. Soil Sci.*, in press.
- Celis, R., M. Real, M.C. Hermosín, and J. Cornejo. 2005. Sorption and leaching behavior of polar aromatic acids in agricultural soils by batch and column leaching tests. *Eur. J. Soil Sci.* 56:287–297.
- Cornejo, J., and M.C. Hermosín. 1996. Interaction of humic substances and clays. p. 595–634. *In* A. Piccolo (ed.) *Humic substances in terrestrial ecosystems*. Elsevier, Amsterdam.
- Cox, L., R. Celis, M.C. Hermosín, J. Cornejo, A. Zsolnay, and K. Zeller. 2000. Effect of organic amendments on herbicide sorption as related to the nature of the dissolved organic matter. *Environ. Sci. Technol.* 34:4600–4605.
- Evans, A. 1998. Biodegradation of C-14-labeled low molecular weight organic acids using three biometer methods. *J. Geochem. Explor.* 65:17–25.
- Gan, J., W.C. Koskinen, R.L. Becker, and D.D. Buhler. 1995. Effect of concentration of persistence of alachlor in soil. *J. Environ. Qual.* 24:1162–1169.
- Johansen, S.S., A.B. Hansen, H. Mosbæk, and E. Arvin. 1997. Characterization of heteroaromatic and other organic compounds in groundwater at creosote-contaminated sites in Denmark. *Ground Water Monit. Rev.* 1:106–115.
- Kearney, P.C., D.R. Shelton, and W.C. Koskinen. 1997. Soil chemistry of pesticides. p. 419–451. *In* M. Howe-Grant (ed.) *Encyclopedia of chemical technology*, 4th ed., Vol. 22. John Wiley & Sons, New York.
- Küllerich, O., and E. Arvin. 1996. Ground water contamination from creosote sites. *Ground Water Monit. Rev.* 16:112–117.
- Koskinen, W.C., G.A. O'Connor, and H.H. Cheng. 1979. Characterization of hysteresis in the desorption of 2,4,5-T from soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 43:871–874.
- Langbehn, A., and H. Steinhart. 1994. Determination of organic acids and ketones in contaminated soils. *J. High Resol. Chrom.* 17:293–298.
- Meyer, S., S. Cartellieri, and H. Steinhart. 1999. Simultaneous determination of PAHs, hetero-PAHs (N, S, O), and their degradation

- products in creosote-contaminated soils: Method development, validation, and application to hazardous waste sites. *Anal. Chem.* 71:4023-4029.
- Meyer, S., and H. Steinhart. 2000. Effects of heterocyclic PAHs (N, S, O) on the biodegradation of typical tar oil PAHs in a soil/compost mixture. *Chemosphere* 40:359-367.
- Meyer, S., and H. Steinhart. 2001. Fate of PAHs and Hetero-PAHs during biodegradation in a model soil/compost-system: Formation of extractable metabolites. *Water Air Soil Pollut.* 132:215-231.
- O'Connor, G.A., P.J. Wierenga, H.H. Cheng, and K.G. Dostader. 1980. Movement of 2,4,5-T through large soil columns. *Soil Sci.* 130:157-162.
- Rav-Acha, Ch., and M. Rebhun. 1992. Binding of organic solutes to dissolved humic substances and its effects on adsorption and transport in the aquatic environment. *Water Res.* 26:1645-1654.
- Sabbah, I., M. Rebhun, and Z. Gerstl. 2004. An independent prediction of the effect of dissolved organic matter on the transport of polycyclic aromatic hydrocarbons. *J. Contam. Hydrol.* 75:55-70.
- Shen, Y.H. 1999. Sorption of natural dissolved organic matter on soil. *Chemosphere* 38:1505-1515.
- Truelsen, F., J.T. Anderson, and M.G. Ehrhardt. 1999. Acidic and non-acidic products from the photo-oxidation of the crude oil component dibenzothiophene dissolved in seawater. *Anal. Chim. Acta* 392: 19-28.
- Vila, J., Z. López, J.I. Bauzá, C. Minguillón, and M. Grifoll. 2003. Accumulation of metabolites during bacterial degradation of PAH-mixtures, p. 472-480. In G.J. Annokké et al. (ed.) *Proceedings of the 8th International FZK/TNO Conference on Contaminated Soil*. Forschungszentrum Karlsruhe GmbH, Karlsruhe.