EFFECTO DE LA MATRIZ MINERAL SOBRE LA DETERMINACIÓN DE LAS FRACCIONES DE FÓSFORO EN SEDIMENTO

P. López y J.A. Morguí

Departamento de Ecología, Universidad de Barcelona, Avda. Diagonal 645, 08028 Barcelona, España.

Palabras clave: métodos, sedimento, fósforo, fraccionamiento de fósforo.

ABSTRACT

The influence of mineral matrix on the analysis of total phosphorus by X-ray fluorescence and the analysis of phosphorus fractions (NaOH-RP, HCL-RP and residual-P) by the sequential procedure of Hieltes & Lijkema (1980) has been evaluated. 17 samples have been made mixing five original sediments in different proportions. Total phosphorus and phosphorus fractions in the artificial samples were analyzed by the same procedure as the original sediments. The comparison between the observed values and the theoretical values, which can be deduced from the composition of the original sediments and the mixing proportions, allow us to establish the analytical variation due to the elemental composition. Results indicated that the analysis of total phosphorus by X-ray fluorescence and the analysis of NaOH-RP were not influenced by the mineral matrix. The observed results of HCL-RP and residual-P differed from the expected, the differences being influenced by iron and total phosphorus.

INTRODUCCIÓN

Uno de los enfoques utilizados para estudiar la dinámica del fósforo en los sistemas acuáticos ha sido considerar las diferentes formas químicas en que este compuesto se encuentra en el sedimento. Aunque ciertamente es muy difícil, sino imposible, identificar todas y cada una de las distintas especies de fósforo sedimentario, si que puede tenerse una estima de aquellas fracciones con un mayor interés ecológico.

Existen muchos protocolos más o menos similares para analizar las diversas fracciones de fósforo en sedimento (revisión en vanEck, 1982; Psenner *et al.*, 1988), siendo uno de los métodos utilizados con mayor frecuencia la extracción secuencial diseñada por Hieltes & Lijkema (1980), dado que se trata de un método relativamente rápido y sencillo. Ahora bien, no todas las técnicas son igualmente aplicables a los distintos tipos de sedimento, por lo que la comparación de los datos obtenidos por distintas metodologías debe hacerse con gran precaución. Por otra parte, la presencia en los sedimentos de concentraciones elevadas de otros compuestos, principalmente materia orgánica, hierro y calcio puede afectar significativamente la determinación de las fracciones de fósforo (Psenner *et al.*, 1988; Bonzongo *et al.*, 1989).

Del mismo modo, existen diversos procedimientos para determinar la concentración total de fósforo en el sedimento, muchos de los cuales se basan en la disolución de la fase sólida mediante agentes enérgicos (HFI, HClO₄, HNO₃, etc.). No obstante, en la actualidad, existen técnicas como la fluorescencia de rayos X (XRF) que permiten el análisis directo de la muestra sólida, con lo que se evitan los errores inherentes al proceso de digestión. Esta técnica permite, además, analizar simultáneamente diversos elementos de la muestra por lo que puede substituir con éxito a otras técnicas que implican una digestión en medio

líquido (Bennet, 1977). La composición de la matriz mineral y el tamaño de partícula pueden interferir con la determinación de ciertos elementos por fluorescencia de rayos X, pero dichas interferencias pueden eliminarse tratando previamente la muestra de sedimento por el método de fusión (Hooper, 1964; Musikas & Vantighem, 1977, Cousen & O'Sullivan, 1984). Ahora bien, la baja concentración de P en los sedimentos lacustres (aproximadamente un 1 por mil) podría dar lugar a una pérdida de precisión del método debido al enmascaramiento de la señal de P por las señales de otros elementos más abundantes. Aunque diversos autores han utilizado la fluorescencia de rayos X para el análisis de diversos metales en sedimentos lacustres (Bradley, 1982; Jones, 1984) existen pocos datos acerca de su utilización para la determinación de P.

Así pues, la composición del sedimento debe ser tenida en cuenta a la hora de evaluar los resultados obtenidos al analizar muestras de muy distintos tipos, ya que si bien por una parte es necesario utilizar un mismo método para que los resultados sean comparables, el hecho de que los sedimentos sean de distinta naturaleza puede implicar distintos efectos sobre los resultados obtenidos en función del tipo de sedimento analizado.

El experimento realizado trata de evaluar el efecto del contenido de calcio y hierro del sedimento sobre la determinación de fósforo total por fluorescencia de rayos X y sobre la determinación de las fracciones de fósforo por el método secuencial de Hieltes & Lijklema (1980). Con ello, tendremos una estima de la variabilidad debida a la aplicación de un mismo método sobre distintos tipos de sedimento.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Para la realización del experimento se analizaron cinco muestras pertenecientes a sedimentos de distinta naturaleza, cuya composición elemental se da en la Tabla 1. Los cinco tipos de sedimento se pulverizaron finamente y se mezclaron en las proporciones indicadas en la Tabla 2, generando 17 muestras distintas que fueron analizadas siguiendo el mismo protocolo que para las muestras originales. La concentración teórica en las muestras artificiales se ha calculado mediante la fórmula:

$$X_T = \sum X_N * \% N$$

en la que X_T es la concentración teórica del compuesto X en la muestra T, X_N es la concentración del compuesto X en la muestra original N, y % N es la proporción en que interviene la muestra original N para formar la muestra artificial T. (N = A, B, C, D, E; T = 1 a 17).

TABLA 1.- Concentraciones de los distintos compuestos del sedimento en las muestras originales (A, B, C, D y E). Concentraciones de fósforo en $\mu\text{g-at.g}^{-1}$ peso seco, Ca y Fe en porcentaje de peso seco.

MUESTRA ORIGINAL	NaOH-RP	HCl-RP	P RESIDUAL	P TOTAL	Ca	Fe
A	31.829	4.090	35.811	71.729	0.450	4.360
B	1.537	6.080	20.285	26.723	0.490	5.270
C	0.017	4.022	11.432	15.471	17.400	2.470
D	0.095	5.181	10.196	15.471	17.020	2.390
E	0.067	8.397	9.820	18.284	9.460	3.890

Tabla 2. Proporciones en que se mezclaron las cinco muestras originales para generar las 17 muestras artificiales.

MUESTRAS ARTIFICIALES																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
A	5	5	5	5	50	8.5	12	12	12	12	12	12	59	12	59	12	12
B	59	12	12	12	-	12	5	5	5	59	12	12	12	59	12	59	12
C	12	59	12	12	50	59	59	12	12	5	5	5	12	12	12	12	59
D	12	12	59	12	-	8.5	12	59	12	12	59	12	5	5	12	12	12
E	12	12	12	59	-	12	12	12	59	12	12	59	12	12	5	5	5

MÉTODOS

Para cada muestra se han determinado un total de cuatro parámetros: fósforo total o PT, fósforo extraíble con NaOH o NaOH-RP que se considera una estima del fosfato asociado a hidróxidos metálicos, fósforo extraíble con HCL o HCL-RP que se considera una estima del fosfato asociado a apatito y compuestos similares y fósforo residual (P-residual). Asimismo se ha determinado la concentración de Ca y Fe por ser dos elementos estrechamente asociados al fósforo.

Las concentraciones de P total, Ca y Fe se han determinado en los Servicios Científico-Técnicos de la Universidad de Barcelona mediante fluorescencia de rayos X tras tratar las muestras por el método de fusión con tetraborato de litio (Musikas & Vantighem, 1977).

Las fracciones de fósforo se han determinado por extracción sucesiva con diversos solventes, siguiendo el método de Hieltes & Lijklema (1980), ligeramente modificado.

El NaOH-RP se ha determinado tratando el sedimento, previamente lavado con agua destilada, con NaOH 0.1 M, en proporción 30:1 (volumen:peso) durante 16 horas, con agitación continua a temperatura ambiente. A continuación se centrifuga y se recoge el sobrenadante; el residuo se lava con NaCl 2M, se centrifuga de nuevo y el sobrenadante se añade al extracto anterior. La concentración de fósforo disuelto en el extracto se determina, tras ajustar el pH al punto de viraje de la fenolftaleína, por el método habitual del fosfomolibdato.

El HCL-RP se ha determinado tratando el residuo obtenido en el proceso anterior con HCL 0.1 N, en proporción 30:1 (volumen:peso) durante 16 horas, con agitación continua y a temperatura ambiente. A continuación se centrifuga y lava como en el caso anterior y el extracto neutralizado se analiza por el mismo método.

Por último el P residual se calcula por diferencia entre el P total y la suma de NaOH-RP y HCL-RP. Esta fracción incluye todas las formas altamente refractarias ya sean de naturaleza orgánica o inorgánica.

RESULTADOS

En la Figura 1 se comparan los valores de fósforo total, NaOH-RP, HCL-RP y fósforo residual de las muestras artificiales deducidos teóricamente (véase Diseño Experimental)

Figura 1.- Rectas de regresión entre los valores teóricos (deducidos de los valores de las Tablas 1 y 2) y los observados mediante análisis de las muestras artificiales.

con los obtenidos al analizar las mezclas de sedimento.

Para evaluar el grado de ajuste entre valores teóricos y observados se ha calculado la recta de regresión entre ambas series de datos (Figura 1, Tabla 3). De no existir ningún

tipo de efecto de la matriz mineral, los valores observados deben ser iguales a los teóricos y la recta de regresión debe ajustarse a la ecuación:

$$\text{Valor}_{\text{observado}} = \text{Valor}_{\text{teórico}} * 1 - 0$$

Para el caso del fósforo total la recta obtenida se ajusta considerablemente a la ecuación anterior, con un coeficiente de regresión próximo a 1 (Figura 1D, Tabla 3), por lo que puede considerarse que la matriz mineral no afecta a la determinación de esta fracción de fósforo cuando se determina mediante fluorescencia de rayos X.

También para el NaOH-RP la recta obtenida se ajusta bastante a la ecuación teórica,

aunque el coeficiente de regresión es ligeramente inferior al del caso anterior (Figura 1A, Tabla 3).

TABLA 3.- Ecuaciones de regresión entre valores teóricos (deducidos de las concentraciones de las muestras originales y las proporciones en que intervienen en las muestras artificiales) y observados de las distintas formas de fósforo.

$$PT_{\text{observado}} = PT_{\text{teórico}} \times 0.999 - 0.32 \quad r^2 = 0.98$$

$$NaOH-RP_{\text{observado}} = NaOH-RP_{\text{teórico}} \times 1.020 - 1. \quad r^2 = 0.87$$

$$HCl-RP_{\text{observado}} = HCl-RP_{\text{teórico}} \times 0.47 + 3.58 \quad r^2 = 0.49$$

$$P\text{-residual}_{\text{observado}} = P\text{-residual}_{\text{teórico}} \times 0.640 + 9.354 \quad r^2 = 0.65$$

$$HCl-RP_{\text{observado}} = HCl-RP_{\text{teórico}} \times 0.62 + PT_{\text{teórico}} \times 0.03 - Fe \times 0.30 \quad r^2 = 0.62$$

$$P\text{-residual}_{\text{observado}} = P\text{-residual}_{\text{teórico}} \times 0.061 + PT_{\text{teórico}} \times 0.397 + Fe \times 0.688 + 5.430 \quad r^2 = 0.88.$$

En cambio, para el HCl-RP, el coeficiente de regresión obtenido es muy inferior, y la ecuación se aparta de la prevista (Figura 1B, Tabla 3). El coeficiente de regresión aumenta de 0.49 a 0.52 al considerar también los valores de hierro y fósforo total, pero no se modifica al considerar el calcio (Tabla 3).

Finalmente, el P-residual (PR) se comporta de forma similar al HCl-RP, la ecuación de regresión entre los valores teóricos y observados se aparta de la ecuación teórica (Figura 1C), aunque el coeficiente de regresión es mejor que para el caso del HCl-RP, mejorando de 0.65 a 0.88 al considerar también la concentración de hierro y fósforo total (Tabla 3).

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos indican que la determinación de fósforo total mediante fluorescencia de rayos X no se ve afectada por la matriz mineral de la muestra, ni siquiera cuando se trata de muestras con una baja concentración de fósforo. Por tanto este método resulta muy adecuado cuando se trata de comparar sedimentos de distinta procedencia.

El análisis secuencial de las diversas especies químicas del fosfato, sí resulta afectado por la matriz mineral, aunque de forma distinta según la fracción considerada. Así, la fracción menos afectada por la composición elemental del sedimento es el NaOH-RP, una de las fracciones de mayor interés desde el punto de vista ecológico, puesto que diversos estudios la asocian con la fracción más fácilmente asimilable por el fitoplancton (Williams *et al.*, 1980; Young & DePinto, 1982). El lavado previo a la extracción con agua destilada, propuesto por Psenner (1984) en lugar de la extracción con NH_4Cl del método original de Hieltes & Lijklema (1980), parece cumplir la función de eliminar la posible adsorción de fosfato sobre carbonatos durante la extracción alcalina de sedimentos calcáreos, ya que no se ha observado influencia del calcio sobre la determinación de esta fracción.

La fracción HCl-RP es la que se ve más afectada por la matriz mineral. Las diferencias entre los valores esperados y obtenidos pueden relacionarse principalmente con la presencia de hierro y en menor grado con el contenido total de fósforo del sedimento. La presencia de hierro produce una infraestima de la concentración de HCl-RP, mientras que el fósforo total produce una sobreestima. Esta fracción se considera generalmente como una estima del fósforo asociado a calcio, aunque diversos autores (Psenner *et al.*, 1988, Bonzongo *et al.*, 1989) han indicado ya que la utilización de HCl puede solubilizar compuestos distintos al apatito, especialmente fósforo asociado a materia orgánica, principalmente ácidos húmicos. Dado que los sedimentos con elevadas concentraciones de fósforo total, suelen presentar también una elevada proporción de fósforo orgánico, ello explicaría la sobreestima de esta fracción debida al contenido en P total. Por otra parte, Hieltes & Lijklema (1980) sugieren que el HCl puede también extraer una cierta proporción de fosfatos ocluidos en óxidos e hidróxidos de hierro. Williams *et al.*, 1976 utilizan una extracción intermedia con citrato-ditionita-bicarbonato (CDB) para estimar este tipo de fósforo. Sin embargo, los resultados obtenidos en nuestro caso (cuanto mayor es la concentración de hierro, menor es el valor de HCl-RP observado) no parece concordar con este fenómeno. Para poder interpretar claramente el significado de las diferencias observadas sería necesario un estudio más detallado del efecto de otros elementos presentes en el sedimento y de la cantidad de fósforo que puede extraerse con CDB según el método de Williams *et al.* (1976).

La determinación del fósforo residual queda, lógicamente, afectada por el efecto de la matriz mineral sobre el HCl-RP, ya que la fracción residual se obtiene por diferencia entre el fósforo total y la suma de HCl-RP y NaOH-RP. Así, cabría esperar que elevadas concentraciones de fósforo total produjeran una infraestima de dicha fracción (puesto que producen una sobreestima de HCl-RP). Sin embargo, no ocurre así, y la concentración de fósforo residual observada parece depender más de la concentración de fósforo total teórico, que de ningún otro factor. De hecho, esta fracción es la de más difícil interpretación. En general se asocia a las formas "refractarias" (es decir, que se solubilizan muy difícilmente) de fósforo, ya sean de naturaleza orgánica o inorgánica (Psenner *et al.*, 1988). Una correcta interpretación de esta fracción requiere un mejor conocimiento de las formas orgánicas del sedimento, así como de las formas ocluidas en compuestos metálicos.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos sinceramente la ayuda prestada por el personal de los Servicios Científico-Técnicos de la Universidad de Barcelona para la realización de los análisis de fluorescencia de rayos X. Este estudio ha sido parcialmente financiado por una Ayuda a la Investigación de la Caixa de Barcelona.

BIBLIOGRAFÍA

- Bennet, H. 1977. Analysis of silicates -ceramic and geochemical: A review. *The analyst*, 102. 153-179.
- Bonzongo, J.C., G. Bertru, & G. Martin. 1989. Les methodes de speciation du phosphore dans les sediments: Critiques et propositions pour l'evaluation des fractions minerales et organiques. *Arch. Hydrobiol.* 116. 61-69.
- Bradley, S.R. 1982. Sediment quality related to discharge in a mineralised region of Wales.

In: Recent developments in the explanation and prediction of erosion and sediment yield.
IAHS Publ. 137. 341-350.

Cousen, S.M. & P.E. O'Sullivan. 1984. The use of X-ray fluorescence spectrometry in paleolimnology. Verh. Internat. Verein. Limnol. 22. 1388-1390.

Hieltjes, A.H. & L. Lijklema. 1980. Fractionation of inorganic phosphates in calcareous sediments. J. Environ. Qual. 9. 405-407.

Hooper, P.R. 1964. Rapid analysis of rocks by X-ray fluorescence. Analytical Chemistry. 36. 1271-1276.

Jones, R. 1984. Heavy metals in the sediments of Llangorse Lake, Wales, since Celtic-Roman times. Verh. Internat. Verein. Limnol. 22. 1377-1382.

Musikas, N. & G. Vantighem. 1977. For a better utilization of XRF in cement works. Rev. Mat. Constr. 706. 135-144.

Psenner, R. 1984. Phosphorus release patterns from sediments of a meromictic mesotrophic lake (Piburger See, Austria). Verh. Internat. Verein. Limnol. 22. 219-228.

Psenner, R., B. Bostrom, M. Dinka, K. Pettersson, R. Pucsko and M. Sager. 1988. Fractionation of phosphorus in suspended matter and sediment. Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol. 30. 98-112.

VanEck, G.T.M. 1982. Forms of phosphorus in particulate matter from the Holland Diep/Haringuliet, The Netherlands. Hydrobiologia. 92. 665-681.

Williams, J.D.H., J-M. Jaquet, and R.L. Thomas. 1976. Forms of phosphorus in the surficial sediments of lake Eire. J. Fish. Res. Bd. Can. 33. 413-429.

Williams, J.D.H., H. Shear and R.L. Thomas. 1980. Availability to *Scenedesmus quadricauda* of different forms of phosphorus in sedimentary materials from the Great Lakes. Limnol. Oceanogr. 25. 1-11.

Young, T.C. and J.V. DePinto. 1982. Algal availability of particulate phosphorus from diffuse and point sources in the lower Great Lakes basin. Hydrobiologia 91. 111-119.