

00376



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
FACULTAD DE CIENCIAS

6

ESPECIACION DE ARSENICO Y SU RELACION CON  
LA ACTIVIDAD ENZIMATICA (DESHIDROGENASAS)  
EN LOS SUELOS DE LAS INMEDIACIONES DE UNA  
PRESA DE JALES EN EL ESTADO DE ZACATECAS

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE  
**MAESTRA EN CIENCIAS**  
**(ECOLOGIA Y CIENCIAS AMBIENTALES)**  
P R E S E N T A  
**MARIA DEL PILAR FERNANDEZ LOMELIN**

DIRECTORA DE TESIS: M. EN C. MARGARITA EUGENIA GUTIERREZ RUIZ

MEXICO, D. F.,

JULIO DE 2002

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

---

**DEDICADO A:**

Mis padres                    Ma. Guadalupe Graciela y Luis Enrique (donde estés)

Mi esposo                    Juan Alberto

Mis dos hijos:                Nahiel y Luis Alberto

A Mis hermanos y sus familias:

Ana Graciela

Luis Enrique

José Álvaro

Gabriel

Ma Teresa

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

---

## Agradecimientos

A mi comité tutorial:

- ☒ M. en C. Margarita Gutiérrez Ruiz, por su asesoría y la dirección de esta tesis, integración a su equipo de trabajo y su apoyo en muchos sentidos.
- ☒ Dra Irma Aurora Rosas Pérez, por su guía, sus clases y sugerencias.
- ☒ Dr Jorge López Blanco, por sus sugerencias y revisiones.

A todos los que, de alguna manera, intervinieron en la realización de este trabajo y término.

- ☒ M. en C. Irene Sommer Cervantes, por su colaboración en el planteamiento del proyecto de investigación, la dirección en el muestreo y en el análisis geoestadístico, además, por su amistad
- ☒ Dra. Silke Cram Heydrich, por sus sugerencias en el planteamiento de la parte biológica de este trabajo y por todo su apoyo e interés manifestado.
- ☒ A la Dra. Rosa Navarrete, por la revisión y observaciones a este trabajo
- ☒ Al Dr. Bertram Nagel, por su gran apoyo técnico y financiero.
- ☒ M. en C. Ma. Estela Carmona, por la revisión de este trabajo y por su apoyo en el transcurso del desarrollo de esta investigación
- ☒ M. en C. Francisco Romero, por sus valiosos comentarios al trabajo y elaboración de mapas
- ☒ I.Q. Heriberto, por el apoyo técnico que me ha brindado durante el desarrollo de este trabajo.
- ☒ A Juan Alberto Greaves Medina, por los dibujos y gran apoyo
- ☒ A Nahiel Greaves por la revisión del contenido de esta tesis, sus sugerencias y apoyo en los dibujos y en la presentación
- ☒ A Luis Alberto Greaves por sus sugerencias y apoyo técnico en la elaboración de la presentación
- ☒ A Elena Guzmán por su apoyo logístico.
- ☒ Al Dr. Fernando Ávila del CIMAS, Guanajuato, por la colaboración en el análisis geoestadístico de este trabajo

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

---

☞ A M en C. Hilda Rivas Solórzano, por sus comentarios y sugerencias

☞ A M en C. José Santos, por la información y la bibliografía facilitada.

☞ A Pas Biol Alma Envila, por el apoyo en el trabajo de laboratorio

☞ A la Agencia de Cooperación Alemana (GTZ) por el apoyo al desarrollo del laboratorio

☞ A CONACyT por haber apoyado el proyecto "Química del arsénico en jales mineros", del cual este trabajo forma parte

A mis compañeros de laboratorio: Claudia Hernández, Gerardo Martínez

A los demás integrantes y personas cercanas a Lafqa: Coro, Gilda, Berenice, Tania, Aída, José Antonio, Jesús, Edgar.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## Tabla de contenido

Listado de Tablas	i
Listado de Figuras	ii
RESUMEN	iv
Introducción	1
<b>1 MARCO TEÓRICO</b>	<b>5</b>
<b>1.1 Generalidades del arsénico</b>	<b>5</b>
<b>1.2 El arsénico en el ambiente</b>	<b>6</b>
1.2.1 Distribución en la naturaleza	6
1.2.2 Fuentes de dispersión	7
<b>1.3 Ciclo ambiental</b>	<b>8</b>
<b>1.4 Toxicidad del arsénico</b>	<b>17</b>
<b>1.5 El arsénico y la minería</b>	<b>21</b>
1.5.1 Los residuos del proceso de concentración	21
1.5.2 Comportamiento del As en jales	22
<b>1.6 Límites ocupacionales y ambientales del arsénico</b>	<b>25</b>
<b>1.7 El arsénico y los microorganismos del suelo</b>	<b>26</b>
<b>1.8 Evaluación de suelos contaminados: un enfoque biológico</b>	<b>28</b>
1.8.1 Actividad enzimática en los suelos	31
1.8.2 Deshidrogenasas	35
<b>2 DESARROLLO DEL ESTUDIO</b>	<b>40</b>
<b>2.1 Descripción del Área de Estudio</b>	<b>40</b>
<b>2.2 Materiales y métodos</b>	<b>43</b>
2.2.1 Muestreo	43
2.2.2 Métodos analíticos	48
2.2.3 Análisis geoestadístico	50
<b>3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>51</b>
<b>3.1 Características generales de suelos y jales</b>	<b>51</b>

---

<b>3.2</b>	<b>Concentración de arsénico y plomo en suelos superficiales y en perfiles</b>	<b>57</b>
<b>3.3</b>	<b>Evaluación del área afectada por polvos de jales</b>	<b>62</b>
3.3.1	Evaluación de la dispersión de los jales con base en los mapas de isolíneas de concentración	63
3.3.2	Evaluación de la afectación con base en valores de referencia del área	64
3.3.3	Evaluación de la afectación con base en estándares internacionales	65
3.3.4	Zonificación con base en la relación As/Pb y As menos Pb	66
<b>3.4</b>	<b>As soluble en agua: total, As (III) y As (V)</b>	<b>70</b>
<b>3.5</b>	<b>Actividad de las deshidrogenasas</b>	<b>75</b>
<b>3.6</b>	<b>La actividad enzimática para evaluar el impacto del As sobre los microorganismos en suelos contaminados</b>	<b>81</b>
<b>4</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>85</b>
	<b>BIBLIOGRAFÍA CITADA</b>	<b>88</b>
	<b>APÉNDICES</b>	<b>96</b>
	<b>MÉTODOS</b>	<b>96</b>
I.	Métodos para la caracterización física y química de muestras de suelos y jales	96
II.	Determinación de la actividad de las deshidrogenasas en muestras de suelos	104
b)	Actividad de las DHA en muestras adicionadas con sales de As	110
c)	Interferencia del Cu en el uso de la técnica	112
d)	Tratamiento con formaldehído	113
III.	Análisis Geoestadístico	115
	<b>RESULTADOS</b>	<b>123</b>

## LISTADO DE TABLAS

Tabla 1-1. Límites ocupacionales y ambientales del arsénico .....	25
Tabla 2-1 Descripción de las muestras de jales y suelos colectadas durante la visita de reconocimiento .....	44
Tabla 2-2. Descripción del muestreo de jales y suelos colectados en el área de estudio .....	48
Tabla 3-1. pH y concentración promedio de $As_{total}$ y $Pb_{total}$ e intervalo de confianza (95%) en jales superficiales .....	51
Tabla 3-2 pH y concentración de $As_{total}$ y $Pb_{total}$ en jales (0-90 cm prof) .....	52
Tabla 3-3 Valores promedio de pH, conductividad eléctrica, $As_{total}$ y $Pb_{total}$ , en muestras de suelos(1.5-11.5 cm) .....	54
Tabla. 3-4. Concentraciones promedio de $As_{total}$ (mg/kg) en suelos superficiales (0-1.5 cm) del área de estudio .....	58
Tabla. 3-4 Concentraciones promedio de $As_{total}$ (mg/kg) en suelos superficiales (0-1.5 cm) del área de estudio .....	58
Tabla 3-5. Concentraciones promedio de $Pb_{total}$ (mg/kg) en suelos superficiales (0-1.5 cm) del área de estudio .....	59
Tabla 3-6. Concentración promedio de $As_{total}$ y $Pb_{total}$ (mg/kg) en perfiles de suelos .....	61
Tabla 3-7 Concentraciones de As soluble: total, As (III) y As (V) (ug/kg) en muestras de suelo superficial (1.5-11.5 cm) .....	72
Tabla 3-8. Actividad de las DHA (ug/g.h INTF) en muestras de suelo superficial en el área de estudio .....	76
Tabla 3-9. Coeficientes de correlación (Pearson) concentración de As soluble (mg/kg) (Total, As (III) y As (V))-Actividad de las DHA (ug/g.h INTF) en muestras de la zona de estudio .....	78
Tabla 3-10 Actividad de las DHA (ug/g.h INTF) en muestras de suelo del área de estudio con y sin tratamiento con formaldehído .....	81
Tabla II-1. Valores de absorbancia a $\lambda=478$ nm con diferentes concentraciones de cloruro de iodinitrotetrazolio .....	109
Tabla II-2 Actividad de las DHA en muestras de suelo adicionadas con As(V) .....	111
Tabla II-3. Actividad de las DHA en muestras de suelo del área de estudio (1.5-11.5 cm) y su contenido de Cu. ....	112

## LISTADO DE FIGURAS

Fig 1-1. Formas químicas del arsénico y su transformación en suelos	9
Fig 1-2. Diagrama Eh-pH para el sistema As-O-H	12
Fig 1-3. Diagrama de distribución: a) ácido arsénico; b) ácido arsenioso	13
Fig 1-4. Ciclo simplificado de transferencia de arsénico	15
Fig 1-5. Exportación del arsenito	27
Fig.1-6. Esquema conceptual de la composición de la actividad enzimática en suelos	34
Fig. 1-7 Reducción del $\text{NAD}^+$ y de las sales de tetrazolio.	38
Fig. 2-1 Localización del área de estudio	40
Fig. 2-2 Viseras eólicas en la presa de jales	43
Fig. 2-3 Mapa de localización de los puntos de muestreo	46
Fig. 3-1 pH en suelos superficiales	53
Fig. 3-2. Conductividad eléctrica (mS/cm) en suelos superficiales	56
Fig. 3-3. Concentración promedio de $\text{As}_{\text{total}}$ y $\text{Pb}_{\text{total}}$ (mg/kg) en perfiles de suelos	62
Fig. 3-4. Isolíneas de concentración del ln de $\text{As}_{\text{total}}$	64
Fig. 3-5. Isolíneas de concentración del ln de $\text{Pb}_{\text{total}}$	64
Fig. 3-6. Porcentaje de suelos afectados y no afectados de acuerdo al contenido de As y Pb totales	65
Fig. 3-7. Relación As/Pb totales y conductividad eléctrica en el área de estudio	67
Fig. 3-8. Zonificación del área de estudio con base en la distribución As menos Pb	69
Fig 3-9 Concentraciones promedio de As soluble: total y As (III) en el área de estudio	73
Fig. 3-10 Concentraciones de As soluble (total y As (III)) (mg/kg) y la actividad de las DHA ( $\mu\text{g/g.h INTF}$ ) en el área de estudio	77
Fig 3-11 Relación As (V)-actividad de las DHA en muestras colectadas en el área de estudio (suelo 1.5-11 5 cm)	79
Fig II-1. Efecto del cobre sobre la inhibición del INTF	105
Fig II-2 Comparación entre los valores de absorbancia a $\lambda=478 \text{ nm}$ obtenidos con diferentes concentraciones de INT	109
Fig II-3. Relación de la concentración de As soluble y la actividad de las DHA en muestras de suelo adicionadas con As (V)	111
Figura III-1 Ejemplos de variogramas	116

---

<i>Figura III-2. Histograma de los datos originales de las concentraciones de As</i>	119
<i>Figura III-3. Histograma del logaritmo de las concentraciones de As</i>	119
<i>Figura III-4. Variograma omnidireccional para log As</i>	120
<i>Figura III-5. Variograma direccional para log As</i>	121

## RESUMEN

Minerales que contienen arsénico (As) y otros elementos potencialmente tóxicos (EPT) que son dispersados al ambiente por actividades industriales, como las relacionadas con el sector minero, son susceptibles de interactuar con el suelo en el cual se depositan, a través de reacciones de precipitación, disolución, adsorción sobre superficies minerales y sufrir transformaciones que pueden llegar a afectar a los microorganismos del suelo.

Se llevó a cabo un estudio en una zona minera del estado de Zacatecas con el objeto de establecer los alcances de la dispersión de polvos provenientes de una presa de jales sobre los suelos superficiales circundantes y evaluar si estos desechos constituyen un riesgo potencial para la microbiota de los suelos.

Se utilizó al As y al Pb como trazadores de la dispersión, ya que se encuentran en mayores concentraciones en los jales, que en los suelos. Se determinaron las concentraciones de As y Pb totales ( $\text{HNO}_3\text{-HCl}$ ), As soluble (total, As (III) y As (V)) en los suelos, ya que su toxicidad depende de la especie química; se determinó también la actividad enzimática (deshidrogenasas), como un indicador del impacto de los jales sobre la capacidad oxidativa de los microorganismos del suelo.

La concentración de Pb total se determinó por espectrofotometría de absorción atómica (EAA), la de As total y soluble, por EAA con generación de hidruros (GH) y la especiación de As (As (III) y As (V)) por el sistema acoplado HPLC-EAA-GH; la actividad de las deshidrogenasas se determinó por el método de reducción de cloruro de 2-p-yodo-3-nitrofenil-5-feniltetrazolio (INT) mediante el cual, se obtienen formazanas (INTF).

Con base en las concentraciones de As y Pb totales se identificaron tres áreas: la menos afectada (al NO del área de estudio), la afectada por los jales de la presa en activo (en los alrededores de la presa y al NE y O) y el área en donde se registraron altas concentraciones de Pb mayores que de los jales.

Se encontraron concentraciones que varían de 3.7 a 7957.0 mg/kg de As total, sin embargo, las concentraciones de As soluble fueron de 0.5 a 3.3 mg/kg (en peso). Los resultados muestran que, tanto el contenido de As total como el soluble aumentan en las proximidades de la presa.

La especie química de As soluble que predomina en los suelos es el As (V) (estado oxidado) y, en los sitios en donde hay condiciones de humedad, mucho más localizadas, se encuentra

la presencia de As (III) (condiciones reductoras). Se encontró una relación inversa ( $r^2=-0.91$ ) entre la concentración de As (V) y la actividad de las deshidrogenasas ( $\mu\text{g/g h INTF}$ ), lo que indica una afectación a los microorganismos del suelo, especialmente en el área cercana a la presa. En los sitios en donde se encontraron concentraciones detectables de As (III), además de la catálisis biótica, se registró una reducción abiótica generada por el medio reductor en los suelos.

La capacidad oxidativa de los microorganismos del suelo puede ser evaluada con este método, siempre y cuando no se presenten en el medio potenciales redox más negativos que los del sistema INT-INTF

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## INTRODUCCIÓN

La degradación ambiental representa una seria amenaza al ambiente, debido entre otras causas, a la aceleración de las actividades industriales y al desarrollo tecnológico de los últimos años, así como a la gran producción de desechos que, en muchas ocasiones, debido a su inadecuado manejo llegan a ser contaminantes del medio. Hay diversas fuentes de estos contaminantes: lodos residuales; desechos municipales, mineros y de plantas eléctricas; fertilizantes, así como partículas y productos provenientes de la quema de combustibles fósiles y otras actividades industriales (Ross, 1989).

Debido a que la incorporación de contaminantes al medio va en aumento y a que los procesos que conducen a su eliminación de los cuerpos receptores son, en general, muy lentos, persisten en el ambiente y tienden a acumularse; así, los riesgos asociados a la contaminación pueden llegar a alterar el funcionamiento natural del medio (suelo, agua y/o aire) y dañar a los microorganismos, los animales, las plantas y el hombre.

Hasta hace relativamente poco tiempo el suelo era considerado como un filtro ambiental que aseguraba la calidad de los ecosistemas (Welp, 1999) por lo que grandes cantidades de desechos de todo tipo eran arrojados en los alrededores de los poblados, cañadas, etc., sin embargo, se ha llegado a comprobar que sus capacidades de amortiguamiento en muchos casos han sido totalmente rebasadas.

Muchos estudios de impacto ambiental se centran en la determinación de las concentraciones totales de elementos potencialmente tóxicos en suelos irrigados por aguas municipales o en zonas cercanas a una fuente de contaminación, ya sea en los alrededores de una fundidora, de una mina, etc. (Woolson, 1983; Bowell, 1994)

En México la minería, una actividad económica que se ha desarrollado fuertemente, especialmente a partir del siglo XVI, está cambiando las condiciones y patrones de disponibilidad de elementos potencialmente tóxicos, ya que su objetivo es la separación y concentración de elementos de valor comercial, del mineral original, con la consecuente concentración de elementos "no redituables" en los desechos generados. El manejo de los desechos representa uno de los problemas ambientales más significativos a los que se enfrenta la industria minera, principalmente por las grandes cantidades que se generan y debido a los cambios químicos que sufren los minerales.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

El riesgo que representan los desechos mineros, derivados de los procesos de concentración (jales) para el ambiente y población, depende de la composición de los mismos, de sus características físicas y de los mecanismos de dispersión, así como de la interacción con los cuerpos receptores y la vulnerabilidad del entorno. Los jales están formados generalmente por partículas de tamaño fino y pueden ser dispersados por agua o por aire y llegar a los cuerpos de agua, los suelos y pueden depositarse también sobre la vegetación.

El arsénico es un elemento abundante en nuestro país y generalmente se encuentra en los desechos mineros. Por su toxicidad, su uso se ha restringido cada vez más, por lo que carece prácticamente de valor comercial y se ha ido acumulando ya que:

- los yacimientos polimetálicos explotados por las actividades mineras son ricos en este elemento
- los desechos de procesos de concentración, especialmente los derivados de las producciones de lixiviado, contienen casi todo el As que estaba presente en el mineral
- en tiempos pasados, su dispersión se debió a la disposición incontrolada de jales en lechos de ríos o barrancas y actualmente se dispersa a partir de presas de jales por efectos del aire o del agua.

Sin embargo, es importante mencionar que aún cuando las concentraciones totales del As y otros elementos potencialmente tóxicos en suelos sean elevadas, pueden no tener efectos sobre la salud y calidad del mismo (Moreno *et al.*, 2001). Por lo general, sólo una parte de la concentración total (extraíble con  $\text{HCl-HNO}_3$ ) es soluble y disponible, por lo que el valor total puede dar idea de la dispersión del contaminante, más no de los efectos tóxicos potenciales. Las cantidades totales pueden ser usadas como un importante indicador para establecer el alcance espacial de la afectación estableciendo además, su dirección y magnitud

La toxicidad del As depende de:

- a) la forma química de la que se trate, la cual, determina su solubilidad, comportamiento y grado de afectación al ambiente, pues se sabe que el arsenito (forma reducida, As(III)) es más tóxico que el arsenato (forma oxidada As (V)) y que las formas inorgánicas son más tóxicas que las orgánicas y de aquí su efecto sobre la salud del suelo afectado (Gorby, 1994);
- b) su interacción con el suelo y la biota. El As puede sufrir reacciones de oxidación-reducción, precipitación-disolución, sorción-desorción y metilación dependiendo de sus parámetros físicos y químicos, tales como textura, pH (acidez), pE (condiciones

oxidantes y reductoras) determinan la solubilidad y disponibilidad del As (Francis and Magnus, 1994; Jain y Ali, 2000) y puede afectar a los microorganismos que viven en él de diferentes maneras.

Dado que la toxicidad del As depende de la disponibilidad (formas químicas), de las características físicas y químicas del suelo, así como de las poblaciones de microorganismos que en él habitan, una evaluación de la afectación no es algo sencillo.

Se han aplicado muchos enfoques conceptuales para evaluar los efectos provocados por los contaminantes del suelo, desde la introducción de una sustancia extraña a un suelo particular, hasta la evaluación de la serie de efectos finales. Las metodologías que se aplican no están estandarizadas para cada clase de contaminante y menos aún para las mezclas de ellos, lo que hace difícil la evaluación y comparación de resultados (Landis y Yu, 1995).

Uno de estos enfoques considera que los sistemas biológicos son muy sensibles a la degradación incipiente, de aquí que el *status* biológico del sistema puede proporcionar una alerta de la degradación de los suelos que permita tomar acciones antes de que ocurra un daño irreversible (Pankhurst *et al.*, 1997).

Los microorganismos del suelo mantienen el ciclo de elementos nutricionales por lo que el daño a las poblaciones microbianas puede representar un deterioro en la salud del suelo (Welp, 1999) y el grado de afectación está ligado a la diversidad de microorganismos presentes, ya que los efectos tóxicos sobre las poblaciones difieren entre las especies y dependen de la porción más sensible de la población (Francis y Magnus, 1994).

Dentro de los métodos que se han desarrollado para evaluar el efecto de los elementos potencialmente tóxicos sobre los microorganismos, se encuentra el uso de la actividad enzimática (Dick, 1997; Obbard, 2001). Dick (1997) señala que la actividad enzimática puede considerarse como un indicador del impacto de los contaminantes sobre procesos específicos en los suelos. Tiene el potencial para determinar si un suelo estresado o degradado puede llevar a cabo procesos bioquímicos específicos y una de las aplicaciones más prometedoras es para determinar el impacto de la contaminación o perturbaciones severas sobre el suelo o para evaluar el éxito en las actividades de restauración.

El indicador de la actividad biológica de los microorganismos en el suelo más ampliamente estudiado es la enzima deshidrogenasa, ya que se presenta sólo en células vivas (Tabatabai, 1994); se ha reportado que su medición puede reflejar la actividad oxidativa total de la microbiota del suelo (Dick y Tabatabai, 1993) y se ha usado frecuentemente como una medida de la alteración causada por plaguicidas (Brzezinska *et al.*, 1998) o metales (Welp, 1999)

---

Dado que los residuos mineros son una fuente importante de contaminación por elementos o especies químicas potencialmente tóxicas, como el As, es importante determinar si los polvos dispersados por vientos o agua, procedentes de las presas de "jales" o producto de otras actividades de la minería, constituyen un riesgo para los suelos que se encuentran en la zona de influencia, para lo cual es necesario realizar análisis químicos y biológicos (evaluación del efecto sobre la actividad enzimática mediante la medición indirecta de la actividad de las deshidrogenasas)

El objetivo del estudio es determinar el área de influencia de una presa de jales y evaluar, el impacto de los desechos mineros sobre los microorganismos del suelo, al relacionar la disminución de la actividad enzimática con los contenidos de As extraíble<sub>(HCl-HNO<sub>3</sub>)</sub> y As soluble (total, As (III) y As (V)) en los suelos.

Para lograr este objetivo se determinó la concentración de As y plomo (Pb)<sup>1</sup> totales en jales y en suelos superficiales de las inmediaciones de una presa de jales en una zona minera en el estado de Zacatecas; se aplicaron métodos geoestadísticos para establecer la magnitud y la dirección de la dispersión de los jales, a través de la distribución de las concentraciones de As y Pb totales; también se midió la concentración de As soluble (total, As (III) y As (V)) y la actividad de las deshidrogenasas en suelos superficiales. Finalmente se correlacionó la actividad de las deshidrogenasas con las concentraciones de As total y As soluble en agua (total, As (III) y As (V)).

---

<sup>1</sup> Se utilizó al As y al Pb como trazadores de la dispersión de los jales, ya que su concentración es mucho mayor en los desechos mineros, que en los suelos.

# 1 MARCO TEÓRICO

## 1.1 Generalidades del arsénico

El As es un elemento de frontera<sup>2</sup> que pertenece a la familia VA ó 15 de la Tabla Periódica. Se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza, en el suelo, agua, aire, biota, ya sea en forma libre o combinado, formando una gran cantidad de compuestos; especialmente es abundante en los yacimientos sulfurados (Yan-Chu, 1994).

Presenta los estados de oxidación de  $-3$ ,  $0$ ,  $+3$  y  $+5$  y forma tanto compuestos inorgánicos como orgánicos, que pueden ser sólidos -con diferente grado de solubilidad- o gases (Bowell, 1994). Los estados de oxidación y sus orbitales electrónicos son similares a los de los elementos de la familia VA, con excepción del nitrógeno<sup>3</sup>. La química del fósforo, al igual que la del nitrógeno, es esencialmente covalente; el arsénico (As) también puede formar uniones covalentes, aunque, a semejanza del antimonio y bismuto presenta una tendencia definida a formar cationes, que se acentúa a medida que aumenta el peso atómico (Cotton y Wilkinson, 1973). Por ejemplo, con el azufre (S), carbono (C), hidrógeno (H) y oxígeno (O) forma uniones covalentes, mientras que con los elementos metálicos de bajas energías de ionización, como el sodio, forma enlaces de carácter iónico. Con algunos metales en su forma elemental forma aleaciones.

Presenta reacciones tanto abióticas como bióticas y es tóxico para la biota (Eisler, 1994). Sin embargo y a pesar de la percepción general de que es el "rey de los venenos", aún se discute sobre su carácter esencial. Se ha reportado que en bajas dosis ( $<2 \mu\text{gAs/día}$ ) estimula el crecimiento y metamorfosis en renacuajos y también, que aumentan la viabilidad y producción de capullos en las orugas de los gusanos de seda; se han observado síntomas de deficiencia de As en ratas, como pelaje grueso, tasa lenta de crecimiento y disminución del hematocrito, aumento en la fragilidad de los eritrocitos y agrandamiento del bazo. Síntomas similares se han documentado en cabras y cerdos cuyas dietas contienen menos de  $0.05 \text{ mgAs/kg}$ , incluyendo bajo peso en las crías. Estos síntomas no se presentaron cuando la ingestión fue de  $0.35 \text{ mg As/kg}$  (NAS, 1977).

---

<sup>2</sup> Los elementos de frontera son aquellos que se encuentran en la Tabla Periódica en zona divisoria entre metales y no metales.

<sup>3</sup> En muchos casos la variación periódica es claramente regular, pero existen muchos otros en los cuales, tanto las propiedades químicas como sus características, no varían en forma continua.

---

Las especies del arsénico son peligrosas cuando por su naturaleza química (reactividad o toxicidad), su disponibilidad (propiedades físicas) y cantidad (dosis), pueden dañar directamente a los seres vivos o indirectamente a través de la zona de interacción del medio abiótico con la biota; los efectos pueden ocurrir en forma inmediata o a mediano y largo plazo (Gutiérrez y Macías, 1999)<sup>4</sup>.

Dependiendo de la disponibilidad en el ambiente, las diferentes especies de As presentan diferentes grados de toxicidad (Sec 1.4) La arsina (gas) y los compuestos de As (III) son los más tóxicos, aunque el efecto en el organismo depende de la vía de ingreso, la dosis y la susceptibilidad individual.

A pesar de no ser un elemento metálico, comúnmente se incluye dentro de la categoría de "metales pesados", debido a su toxicidad y a que es un constituyente común en los minerales metálicos o materiales industriales (Fergusson, 1990) Sin embargo un término más adecuado de utilizar es el de "elemento o especie potencialmente tóxica" (EPT) que incluye a todos los compuestos de elementos metálicos y no metálicos, -como es el caso del arsénico- que afectan al metabolismo de los seres vivos por arriba de una concentración límite.

Se ha utilizado como medicamento, plaguicida y herbicida en la agricultura, y actualmente se usa como material láser (arsenuro de galio) para convertir la electricidad directamente en luz; para la elaboración del bronce, en la pirotecnia, para el endurecimiento de armas de fuego, como conservador para la madera, como desecante, rodenticida, en la flotación de molibdeno, manufactura de vidrio, semiconductores y manufactura de fármacos (Craig, 1986).

## **1.2 El arsénico en el ambiente**

### **1.2.1 Distribución en la naturaleza**

El As se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza, puede estar presente en rocas, suelos, agua, aire y seres vivos (Bhumbla y Keefer, 1994) Su concentración promedio en la corteza terrestre es de 2 a 5 mg/kg (Galvao y Corey, 1987; Tamaki y Frankenberger, 1992).

---

<sup>4</sup> Específicamente una especie es reactiva cuando bajo las condiciones ambientales libera energía cinética o térmica, o gases tóxicos, o cambia drásticamente el pH del medio; y es tóxica cuando afecta el metabolismo de los organismos. Solamente está "disponible" cuando por su estado físico, polaridad, solubilidad y/o tamaño de partícula puede ser transportado por aire o agua y debe estar en una cantidad tal que supere la capacidad amortiguadora del medio y los mecanismos de defensa de la biota (Gutiérrez y Macías, 1999)

---

Las rocas ígneas y sedimentarias contienen concentraciones muy variables de As; por ejemplo, se ha reportado que en lutitas de origen marino los niveles de As varían de 3 a 490 mg/kg (Welch *et al.*, 1988)

Los principales minerales que contienen As son arsenopirita ( $\text{FeAsS}$ ), que es el más común y el más ampliamente distribuido, enargita ( $\text{Cu}_3\text{AsS}_4$ ), realgar ( $\text{As}_4\text{S}_4$ ) y orpimenta ( $\text{As}_2\text{S}_3$ )

Las concentraciones de As reportadas para aguas no contaminadas por el hombre, generalmente son menores a 10  $\mu\text{g/L}$ , pero pueden ser mayores en acuíferos cercanos a depósitos minerales naturales ricos en As o en zonas volcánicas (US Dep. Health & Human Services, 1998).

En los suelos, la fuente natural del As es la roca madre de la cual se formó. El contenido en el suelo puede ser muy parecido a la roca subyacente si el material no ha sido mezclado o redistribuido por procesos pedogenéticos, viento, agua o glaciación o por actividades humanas (Bhumbla y Keefer, 1994). De acuerdo a Lindsay (1979), los niveles de fondo para suelos no contaminados a nivel mundial es de 1 a 40 mg/kg para As, sin embargo Woolson (1983) reporta valores de 0.4 a 100 mg/kg y Davis y Rosalen (1996) de 0.1 a 97 mg/kg con un valor medio de 7.2 mg/kg. En México se han encontrado niveles de fondo para suelos no contaminados que varían de 5 a 64 mg/kg (LAFQA, 2001).

### 1.2.2 Fuentes de dispersión

Los fenómenos naturales y las actividades industriales, especialmente las relacionadas a los sectores energético y minero están cambiando las condiciones, y patrones de disponibilidad del As.

La erosión de depósitos minerales y rocas que contienen As, la actividad biológica, la actividad volcánica, además de las fuentes de As de origen antropogénico, como la quema de carbón mineral, petróleo y esquistos, son responsables de la emisión de As a la atmósfera, el cual es depositado o redistribuido por lluvia o vientos en cuerpos de agua, suelos, sedimentos y biota (Woolson, 1983; US Dep Health & Human Services, 1998)

Se ha informado que el 54% del As en los suelos es producto de actividades antropogénicas (Yan-Chu, 1994), tal es el caso de las altas concentraciones encontradas en los alrededores de sitios mineros o de fundidoras. En suelos de uso agrícola en donde se utilizan compuestos de As como plaguicida, se han reportado niveles de 200 mg/kg de As, a pesar de que parte de

este elemento es volatilizado por la acción de los microorganismos (Woolson, 1983, Susuky *et al* 1974).

Según el inventario de liberación de sustancias tóxicas de los Estados Unidos de Norteamérica, en 1996 fueron dispersadas al ambiente 4,932.84 ton de As generadas por 429 plantas de fundición de metales y 10 4 ton, derivadas de la operación de plantas procesadoras y manufactureras (US Dep. Health & Human Services, 1998).

### 1.3 Ciclo ambiental

Los principales factores que determinan las concentraciones de As en el suelo es la composición de la roca madre<sup>5</sup> y las actividades humanas. La liberación del As del material parental, está determinada, a su vez, por los procesos de formación del suelo o pedogénesis, dependientes del clima (precipitación pluvial y temperatura), del pH (ácido-base) y del potencial de oxido-reducción (expresado como  $Eh$  o como  $pe^6$ ) del ambiente (Yan-Chu, 1994).

Una vez liberado de la roca madre, el movimiento del As en suelos y ecosistemas acuáticos puede describirse como una combinación de reacciones químicas, bioquímicas y geoquímicas que juntas controlan las concentraciones de arsénico soluble en estos sistemas (US Dep. Health & Human Services, 1998).

El As se presenta en los suelos principalmente en forma inorgánica en fases minerales o también unido a la materia orgánica y puede ser transformado a compuestos orgánicos arsenicales por microorganismos del suelo. Este tipo de reacciones influye en forma importante en la biodisponibilidad y comportamiento del As en sistemas naturales.

Existen diferentes factores que, en conjunto, determinan la concentración de As en la solución del suelo. Depende principalmente de la solubilidad de la(s) especie(s) de As, del grado de sorción (adsorción, coprecipitación y absorción), que a su vez se relaciona con el pH y potencial redox (Francis y Magnus, 1994; Jain y Ali, 2000; Kabata-Pendias y Pendias, 1984; Yan-Chu, 1994; Bowell, 1994).

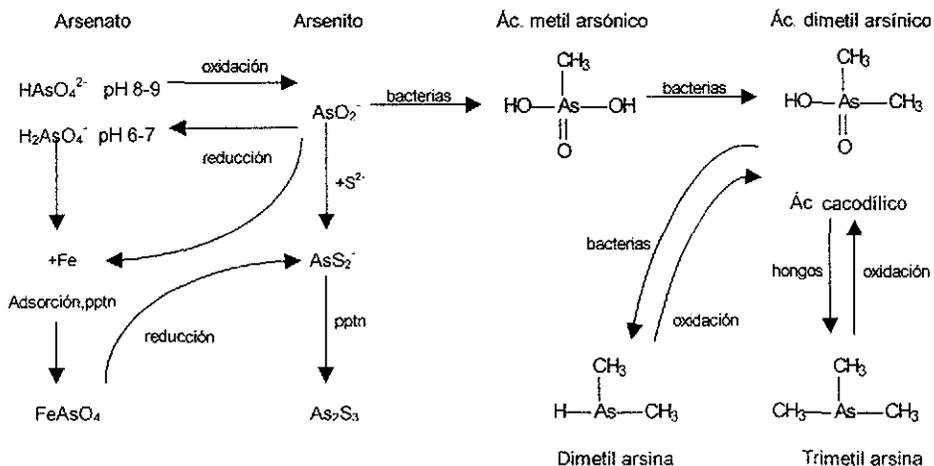
---

<sup>5</sup> Considerando que los materiales no han sido mezclados o redistribuidos por viento, agua, etc

<sup>6</sup> El  $pe$  es el log negativo de la actividad de los electrones y se obtiene al dividir  $Eh$  por 59.2 (derivado de funciones termodinámicas). Para representar las condiciones de un sistema se utiliza la función  $pe+pH$ . De manera semejante al pH que varía de 0 a 14, el  $pe$  varía entre 0 (extremo reducido) y 21.6 (extremo oxidado) (Sadiq, 1997)

En un medio oxidante, las especies de As (V) se encuentran como oxianiones cargados negativamente y se denominan arseniatos, los cuales pueden tener varios grados de protonación, dependiendo del pH.  $\text{AsO}_4^{3-}$ ,  $\text{HAsO}_4^{2-}$ ,  $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$ ,  $\text{H}_3\text{AsO}_4^0$ . El As (III) forma arsenitos y al igual que el arseniato dependiendo la acidez del medio, forma las siguientes especies:  $\text{AsO}_3^{3-}$ ,  $\text{AsO}_2^-$ ,  $\text{HAsO}_2^0$ ,  $\text{HAsO}_3^{2-}$ ,  $\text{H}_2\text{AsO}_3^-$ ,  $\text{H}_3\text{AsO}_3^0$ , óxido ( $\text{As}_2\text{O}_3$ ) y sales, mientras que en ambientes reductores se forma el As metálico, arsinas ( $\text{As}^3$ ) y compuestos metilados (Sadiq *et al.*, 1983; Sadiq, 1997).

Las reacciones que ocurren en los suelos (Fig. 1-1) y sedimentos son complejas, debido a que el potencial redox depende de todos los sistemas oxidantes y reductores de los diferentes componentes de estas matrices, por lo que una medición puntual del potencial redox del suelo puede no ser directamente proporcional a la relación As(V)/As (III) (Yan-Chu, 1994).



(Tomado de Bhumbra y Keefer, 1994)

**Fig. 1-1. Formas químicas del arsénico y su transformación en suelos.**

Los fenómenos que afectan las condiciones redox, por ejemplo, la tasa de bombeo de agua, el uso de suelo y el nivel de precipitación, son importantes para definir la solubilidad del arsénico y su presencia en aguas subterráneas (Jain y Ali, 2000) o en horizontes más profundos del suelo.

Dependiendo del valor redox (pe o Eh) y el pH del suelo, pueden ser estables especies tanto de As (III) como de As (V). Sadiq (1997) con base en cálculos termodinámicos predice que en suelos oxidados, si  $pe+pH > 9$ , serán más abundantes las especies de As (V) ( $HAsO_4^{2-} > H_2AsO_4^-$ , a  $pH=7$ ); mientras que, en suelos relativamente anóxicos, si  $pe+pH < 7$ , predominarán las especies de As (III) ( $HAsO_2^{\circ} = H_2AsO_3^{\circ} > AsO_2^- = H_2AsO_3$ ). Con base en experimentos de laboratorio, *Bowell et al.* (1994) encontró que el arseniato es la especie de As presente en cantidades significativas en suelos aerobios no contaminados ( $pe+pH > 10$ ) y reporta valores de solubilidad bajos

El As soluble aumenta significativamente al disminuir el potencial redox (Eh) y al aumentar el pH. En el intervalo de valores de Eh de 500-200 mV, la solubilidad del As es muy baja y la mayor parte del As se encuentra como As (V). En experimentos con suelos inundados se encontraron valores de Eh de ~115 mV en el suelo y bajo estas condiciones, los arseniatos se redujeron a arsenitos, por lo que se registró un aumento en la solubilidad (*Yan-Chu, 1994*), ya que el arsenito es más soluble que el arseniato.

En general, puede decirse que las concentraciones de As en la solución del suelo, aún en sitios contaminados, son de partes por billón. La movilidad de As es inhibida por fenómenos de sorción en la superficie de óxidos de hierro hidratados, minerales arcillosos, carbonatos y materia orgánica presentes en los cuerpos receptores (suelos, acuíferos, lagos, etc.), o por su reacción con cationes presentes con los cuales forma compuestos insolubles (*Hess y Blanchar, 1976*).

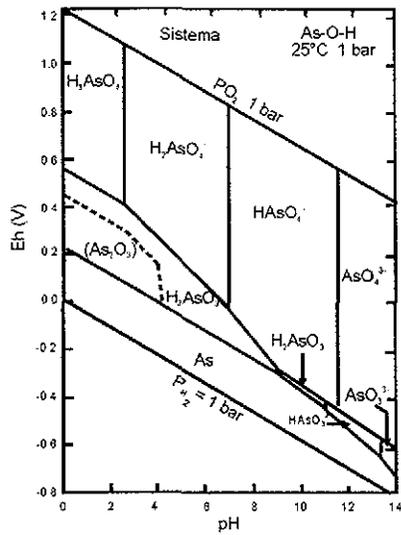
El pH, por su influencia en las reacciones que ocurren en la superficie de minerales (sorción), también afecta el transporte del As. En ambientes neutros o ácidos, el As (V) se sorbe fuertemente, mientras que el As (III) lo hace más débilmente (*US Dep. Health & Human Services, 1998*) Esto explica porqué, a pesar de los altos valores de solubilidad predichos teóricamente para el As, las concentraciones en extractos con agua o en agua de poro pueden resultar mucho menores (*Haswell et al., 1985*).

Debido a las diferencias en la fuerza de sorción relativa de As (III) y As (V) se ha encontrado que los cambios en los valores redox en el suelo alteran las concentraciones de As soluble. Un descenso en el valor de Eh generalmente va acompañado de un aumento en la concentración del As soluble (*Masscheleyn et al., 1991; Onken y Hossner, 1995*).

Bajo condiciones moderadamente reductoras (0-100 mV) la solubilidad del As está controlada por la disolución de oxihidróxidos de Fe ya que las especies de As (V) que estaban sorbidas se liberan. A un potencial de -200 mV, las concentraciones de As (III) aumentan drásticamente (Masscheleyn *et al.*, 1991), ya que disminuye la cantidad de As sorbido. Si las condiciones de inundación se prolongan, la concentración de As soluble disminuye por la sorción de As (III) o precipitación de las fases sólidas de sulfuros que contienen As (Jones *et al.*, 2000). El grado de sorción es influido por las movilizaciones del agua de poro y su subsecuente distribución y el As puede nuevamente ser liberado cuando ocurren cambios químicos o biológicos.

En experimentos con sedimentos lacustres, Oscarson *et al.* (1981) reportaron que la oxidación de As (III) a As (V) es esencialmente un proceso abiótico y que los microorganismos juegan un papel menor. En estudios con óxidos de Mn (IV) sintéticos se mostró que, durante la oxidación de arsenito a arseniato, el Mn fue el principal aceptor de electrones. No se observó la reacción entre As (III) y Fe (III), a pesar de que es termodinámicamente favorable, tal vez debido a que la cinética de este proceso redox es lenta.

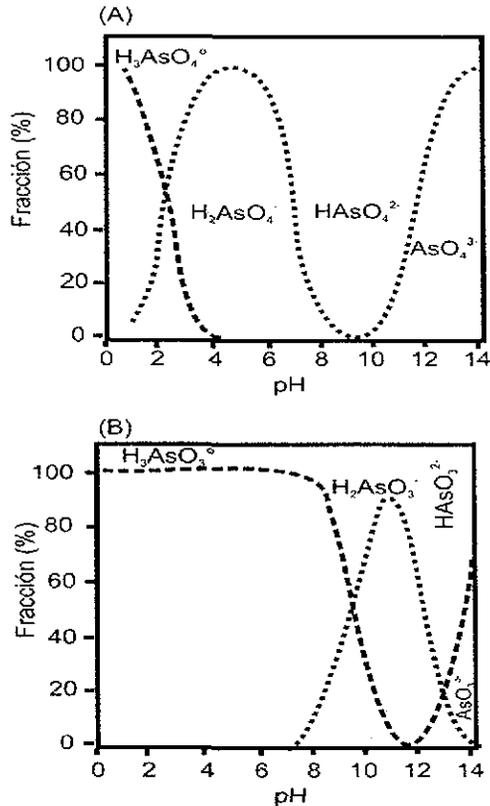
Por otro lado, en estudios de laboratorio con columnas de sedimentos arenosos se encontró que en un ambiente moderadamente oxidante, el As (III) se eluye 5-6 veces más rápido y en mayores concentraciones (aprox. 8 veces) que el As (V). La débil retención del As (III) se consideró como un indicio de una interacción débil entre As (III) y el Fe (III), en comparación de la afinidad que presenta el As (V) al Fe (III). Bajo condiciones reductoras, ambas especies se eluyen similarmente; lo que se explica por la reducción del Fe (III) a Fe (II) y del As (V) a As (III) (Gulens *et al.*, 1989). El equilibrio para As en soluciones acuosas se muestra a continuación (Fig. 1-2):



(Tomado de Bowell, 1994)

**Fig. 1-2. Diagrama Eh-pH para el sistema As-O-H**

Las especies que predominan en el intervalo de pH que se encuentra comúnmente en ambientes naturales son:  $H_2AsO_4^-$  y  $HAsO_4^{2-}$  ( $pK_1=2.4$ ;  $pK_2=7.3$ ) (Fig 1-3).



(Tomado de Rodie *et al.*, 1995)

**Fig. 1-3. Diagrama de distribución: a) ácido arsénico; b) ácido arsenioso**

En suelos calcáreos no contaminados se han encontrado concentraciones de As soluble de entre 5 y 17 ug/L (Sadiq, 1997). Excepcionalmente en suelos no contaminados y, generalmente, en suelos contaminados pueden haber concentraciones de As soluble más altas, principalmente cuando las condiciones son muy reductoras o el pH es muy alcalino

Oscarson *et al* (1981) reportaron que algunas reacciones como la oxidación del As (III) y la sorción de arseniatos y arsenitos en sedimentos, generalmente se llevan a cabo en término de horas, lo cual, sugiere interacciones específicas entre las especies de As y el sorbente, más que una interacción electrostática que produciría reacciones mucho más rápidas, como las que se han observado en ríos de corriente rápida, en las cuales se adsorbe una significativa

---

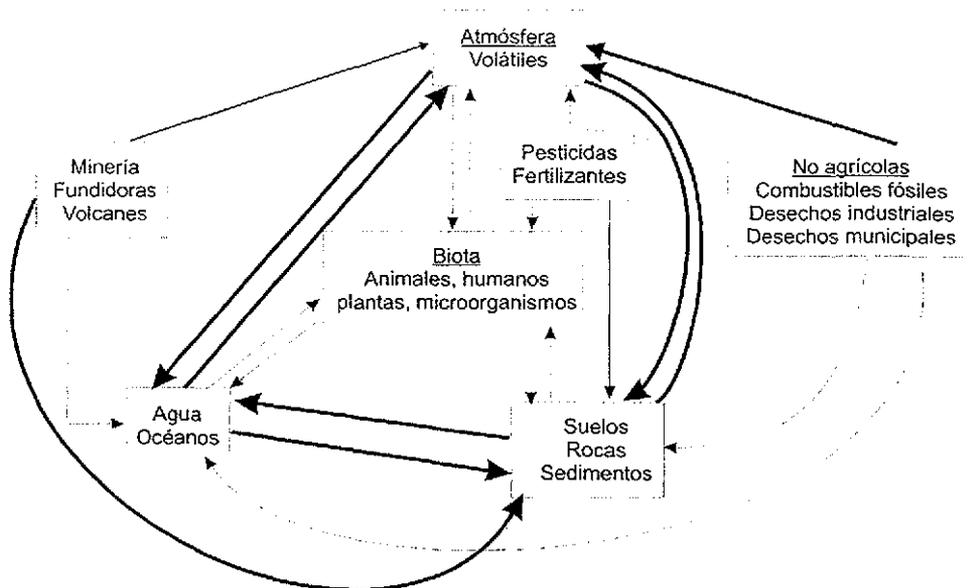
cantidad de As tan pronto como las especies de este elemento entran en contacto con el óxido.

En los suelos y sedimentos que no han alcanzado el equilibrio, la cantidad total de As influye en gran medida en la concentración del As soluble que se encuentra en la fase acuosa. Sin embargo, en el equilibrio la concentración de As soluble es independiente del valor de As total. Estas condiciones deben tomarse en cuenta cuando se estudia el destino y movilidad del arsénico en el ambiente (Yan-Chu, 1994)

De acuerdo a Sadiq (1997) la quimisorción de los arseniatos en coloides del suelo, especialmente en oxi-hidróxidos de Fe y carbonatos, es el mecanismo más común de insolubilización. Este mismo autor sugiere que los arseniatos se concentran gradualmente sobre la superficie de los coloides y precipitan como fases sólidas discretas o como mezclas, mientras que Rodie *et al.* (1995) señalan la posible formación de soluciones sólidas de As en sedimentos de lagos.

En los acuíferos, a pH superior a 8.0, la desorción incrementa el transporte de arseniatos a través de la arena. Los arseniatos en suelos son atraídos por los óxidos cuando la superficie del mineral tiene carga positiva por lo que, cuando el pH se hace más básico, la adsorción del arsénico (V) decrece rápidamente. El arsénico (V) se adsorbe en un intervalo amplio de pH (4-8) e involucra una atracción electrostática entre el anión arseniato y la superficie del mineral; mientras que los fenómenos de coprecipitación y absorción pueden presentar tendencias diferentes Rodie *et al.* (1995)

El ciclo biogeoquímico del As en suelos es complejo y está fuertemente relacionado con las reacciones abióticas antes descritas así como con diversos procesos bióticos, que en conjunto determinan su destino (Fig. 1-4)



(Tomado de Bhumbra y Keefer, 1994)

**Fig. 1-4. Ciclo simplificado de transferencia de arsénico**

Los componentes principales del ciclo son: aire (volátiles); actividad volcánica, minería y fundiciones; biota (plantas, animales, hombre, microorganismos); plaguicidas y fertilizantes, agua y océanos; suelos, rocas y sedimentos; y materiales no agrícolas (combustibles fósiles, desechos industriales y municipales)

El As se deposita en los sedimentos principalmente como complejos de As de oxihidróxidos de Fe (III). Las reacciones subsecuentes están ligadas al comportamiento de la fase de hierro, la cual controla la concentración de As en el agua de poro (Cullen y Reimer, 1989). Ocurre algo similar en suelos (Woolson, 1983); los compuestos de As (III), As (V) y los arsenicales metilados (MMAA y DMAA), forman en el suelo especies muy insolubles por su interacción con los oxihidróxidos que revisten las partículas de arcilla; estas especies no se remueven fácilmente.

En experimentos con columnas se observa que la lixiviación es limitada y el movimiento depende del flujo y volumen de agua que pasa a través del suelo (Gulens *et al.*, 1989). En condiciones anaerobias, debido a las condiciones reductoras, el As puede reaccionar con los iones sulfuro producidos en la zona de reducción de sulfatos, produciendo sulfuros de As, arsenopirita o ambos. Es posible que haya un balance entre especies insolubles, por ejemplo

---

el  $\text{As}_2\text{S}_3$  con las solubles, como el  $\text{AsS}_3^{3-}$ . Posteriormente el As se difunde hacia la columna de agua o se coprecipita con la fase reoxidada de Fe (III) en la zona aeróbica (Cullen y Reimer, 1989)

Si bien, en la mayoría de los suelos, el As tiende a concentrarse y permanecer en la capa superior del suelo mediante procesos abióticos (US Dep Health & Human Services, 1998), hay autores que reportan que en suelos con horizontes superficiales biológicamente activos, la actividad microbiana puede llegar a constituir un factor importante en la disminución de su concentración, como resultado de la volatilización de As de las capas superficiales del suelo, ya que los microorganismos son mediadores de su transformación en el suelo en compuestos arsenicales volátiles (Hassler *et al* , 1984; Woolson, 1977).

#### 1.4 Toxicidad del arsénico

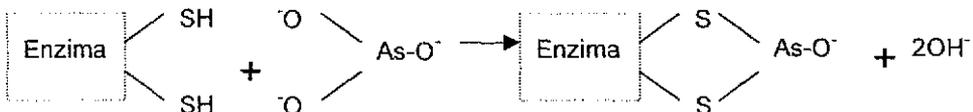
La similitud con el fósforo y la afinidad del As con el azufre, con el cual forma enlaces covalentes, son dos mecanismos que explican su toxicidad en los organismos (Gorby, 1994).

El efecto tóxico del As depende de su estado de oxidación y la mayoría de los compuestos inorgánicos son más tóxicos que las formas orgánicas; por lo que diferentes especies de As presentan diferente grado de toxicidad. A continuación se enumeran en orden decreciente de toxicidad a los compuestos más comunes que se han detectado en el ambiente: arsenias (3-) > arsenitos (3+) > arsenóxidos (3+) > arseniatos (5+) solubles > arseniatos (5+) insolubles, compuestos orgánicos arsenicales > arsénico en su estado elemental. También se menciona que algunos compuestos parecen ser no tóxicos en cualquier concentración elemental (Gorby, 1994; Galvao y Corey, 1987)

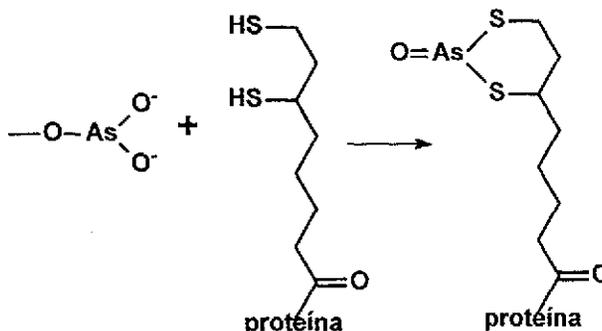
La toxicidad depende también del estado físico del compuesto, ya que para interactuar con el metabolismo, el As debe estar en forma de gas o disuelta (Tamaki y Frankenberger, 1992), o como sólido (dependiendo del tamaño de la partícula) y de otros factores, como la tasa de absorción celular, tasa de eliminación, capacidad de metilación y las características propias del individuo. Los efectos dependen también de la dosis, duración y tiempo de exposición.

La diferencia en la toxicidad entre los compuestos arsenicales trivalente y pentavalente se basa en el mecanismo bioquímico de acción

Los arsenitos (As (III)) son tóxicos principalmente por que forman compuestos solubles y fuertes uniones con los grupos tiol (-SH) presentes en los aminoácidos metionina y cisteína de los centros activos de las enzimas, por lo que son inhibidores eficientes de las mismas (Rosen, 1999). Este efecto es particularmente fuerte en las enzimas que contienen dos grupos tiol adyacentes, en los cuales, se lleva a cabo una unión cruzada y la formación de estructuras heterocíclicas que contienen arsénico (Knowles y Benson, 1983). En el ejemplo siguiente se observa que el arsenito reacciona con los grupos sulfhidrilo (-SH) de una enzima formando una estructura anular muy estable (Manahan, 1990):



Entre algunos de los sistemas enzimáticos inhibidos por el arsénico (III) están las oxidasas de cetoácidos y de aldehídos y las DHAs succínica, málica, láctica y pirúvica (Craig, 1986; Manahan, 1990). Por ejemplo, el ácido alfa lipóico, que es un cofactor que contiene grupos –SH, se requiere para la formación de acetil-CoA y dióxido de carbono (reacción mediada por la piruvato DHA) antes de entrar al ciclo del ácido cítrico. Como se observa en la siguiente reacción, el ácido lipóico se inactiva por complejación con el As (III)

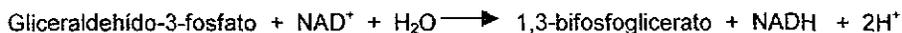


Arsenito      Ácido dihidrolipóico-proteína      complejo As (III) con la proteína (inactiva)

El complejo arsenito dihidrolipóico impide la reoxidación del grupo dihidrolipóico para continuar la actividad enzimática. La actividad enzimática se regenera por la adición de un exceso de un monotiol, como el glutatión o de un ditio, como la antilewisita, lo que confirma que la inhibición se debe a la reacción reversible del As con uno o dos grupos sulfhidrilo en la molécula de la enzima, respectivamente (Manan, 1990; Gorby, 1994)

Los mecanismos tóxicos de los arseniatos (As (V)) son menos conocidos que los del As (III) pero se sabe que no reaccionan tan fácilmente con los grupos sulfhidrilo. El arseniato ( $\text{AsO}_4^{3-}$ ) es muy semejante al fosfato mineral esencial, en cuanto a estructura y reactividad, por lo que ingresa en la mayoría de los organismos a través del sistema de transporte del fosfato; reemplaza al fosfato en las reacciones de fosforilación a través de un proceso llamado arsenólisis y da como resultado la formación de un éster inestable de arseniato de ADP, en lugar del éster fosfato, ATP (Craig, 1986; Stryer, 1995, Howard *et al.*, 1972; EPA, 1985).

Por ejemplo, la reacción neta catalizada por la gliceraldehído-3-fosfato DHA es:





---

Se ha reportado que al proporcionar en la dieta de animales o seres humanos compuestos organoarsenicales incluidos en peces, crustáceos y algas marinas, los compuestos se excretan rápidamente en formas que, en esencia, no cambian (Craig, 1986).

Hay evidencia epidemiológica que el As inorgánico puede causar cáncer en pulmón y piel, particularmente relacionados con exposición ocupacional (Galvao y Corey, 1987). En cuanto a los compuestos organoarsenicales, los resultados de laboratorio no sugieren que puedan ser carcinogénicos; aunque tampoco se han conducido estudios epidemiológicos a este respecto (Craig, 1986).

La exposición al As incluye fuentes naturales, industriales. Se ha reportado que la mayor exposición ocupacional ocurre en diversas etapas de la industria de la minería, especialmente en las plantas de fundición de metales no ferrosos que utilizan minerales arseníferos (Galvao y Corey, 1987). Los niveles tóxicos pueden ocurrir como resultado de un solo evento, o por la lenta acumulación durante periodos prolongados de tiempo (Stolz y Oremland, 1999). Las rutas más comunes por las que el As llega a los seres vivos son: la ingestión de agua proveniente de acuíferos que tengan contacto con estratos ricos en As y agua contaminada por desechos industriales, mineros o agrícolas (Hughes *et al* , 1980). Otras fuentes de contaminación potencial de As son los humos, polvos o neblinas (Perschagen *et al* , 1981), el uso de plaguicidas y los alimentos contaminados o que se han cultivado con agua o en suelos ricos en As disponible.

## 1.5 El arsénico y la minería

### 1.5.1 Los residuos del proceso de concentración

México es un país rico en diversos elementos metálicos y no metálicos con valor comercial. En consecuencia, históricamente la minería ha sido una actividad muy importante para el desarrollo económico, especialmente a nivel regional. Los inicios de la minería se remontan a la época prehispánica, pero fue durante la Colonia cuando adquirió un gran auge, el cual solamente ha disminuido durante épocas de inestabilidad política o cuando los precios de los metales han estado muy bajos (Gutiérrez y Turrent, 1995)

Los yacimientos polimetálicos explotados por las actividades mineras son ricos en As y los procesos de concentración generan un gran cantidad de desechos, principalmente los llamados terreros y colas, que contienen diversas especies de este elemento. En México a las colas o relaves se les denominan jales<sup>7</sup>. Hasta los inicios del siglo XX, la mayoría de los jales generados se depositaban en los alrededores de las minas y en los lechos de los ríos; pero a partir de entonces se empezaron a almacenar en presas de sedimentación conocidas como presas de jales. En México se generan aproximadamente 350,000 toneladas de "jales" por día (INE-Sedesol, 1993), principalmente por la producción de la minería a cielo abierto.

En los jales se acumulan los minerales sin valor con pequeñas cantidades de reactivos y valores (concentrados) y contienen gran parte del As que estaba presente originalmente en el mineral, ya que solamente una pequeña proporción es comercializada. La producción de arsénico utiliza como materia prima los polvos ricos en trióxido de arsénico generados durante la tostación de las menas sulfuradas (Babor e Ibarz, 1964). En 1998, los principales países productores de trióxido de arsénico fueron: China, Chile, Ghana, México y Francia (USGS, 1999).

La composición química de los jales depende de los minerales que forman el yacimiento y de los reactivos que se emplean durante la concentración; así como de algunas características propias del proceso. Los EPT más comunes presentes en las presas de jales en territorio nacional son: plomo, cadmio, arsénico, selenio y mercurio (Gutiérrez-Ruiz y Turrent, 1995), aunque en otros países, como es el caso de Canadá se han reportado algunos otros elementos como antimonio, cobre y níquel (Ripley *et al.*, 1996)

---

<sup>7</sup> La palabra Jal deriva de la palabra Xalli que en Nahuatl significa arena (Gutiérrez y Santos, 1999).

Los contenidos de As en jales son variables, por ejemplo, en 1988, la Comisión Federal de Electricidad llevó a cabo un estudio en Villa Juárez, donde los jales y minerales contenían de 0.2 a 1.8 % de As y los sedimentos, de 0.30 a 3.75 mg/kg. En Hidalgo, una zona ubicada al sur de Durango, los jales contenían entre 0.5 y 2.3% de As (Armienta *et al.*, 1993). Asimismo, la disponibilidad del As en los jales es muy variable. Por ejemplo en Chihuahua, los análisis indicaron que el intervalo de concentración del As era del 0.2 al 0.8% y que en su mayor parte, este elemento estaba en forma de arsenopirita, poco soluble aunque fueron detectados vestigios de trióxido de arsénico, que es un compuesto más soluble (Gómez, 1991).

A pesar de que México es un país con una gran industria minera, la información disponible sobre el impacto de los jales en el ambiente y, especialmente, los efectos en la salud de la población es muy limitada.

### 1.5.2 Comportamiento del As en jales

En general, no ocurren grandes cambios en la composición química de los minerales durante el proceso de beneficio, ya que solamente reacciona la superficie de las partículas, por lo que los EPT, incluyendo al arsénico, se encuentran formando especies insolubles. Sin embargo, durante la molienda, flotación, bombeo y otras operaciones se produce una gran cantidad de partículas muy finas, las cuales pueden llegar a formar coloides (partículas entre 1  $\mu\text{m}$  y 1 nm) (Castellan, 1987) que presentan una gran superficie de reacción, y pueden transportarse a través de los poros del suelo o de los propios jales.

Asimismo, la exposición constante al agua y aire favorecen los procesos de oxidación que alteran el grado de solubilización de los minerales originales, favoreciendo la formación de minerales secundarios. Los procesos de oxidación se inician en las zonas más expuestas al aire y lentamente va avanzando hacia el interior de la partícula. Por ejemplo, los sulfuros de los metales pesados son insolubles, pero al exponerse a la atmósfera y al agua, lentamente se transforman en sulfatos y liberan EPT. Estos elementos dependiendo las condiciones de acidez y potencial redox del medio, pueden formar especies solubles o minerales secundarios insolubles o complejos de sorción en la superficie de diversas partículas, especialmente oxihidroxos y carbonatos (Craw *et al.*, 1999; Roussel *et al.*, 2000).

Las especies solubles y las partículas finas, que incluyen a los coloides, -dependiendo de las condiciones específicas de cada presa de jales, el comportamiento físico de estas partículas y las condiciones ambientales-, pueden ser transportados por viento y agua, dispersando EPT

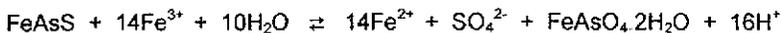
en la atmósfera, cuerpos de agua y suelos (US Dep. Health & Human Services, 1998). El aire transporta a las partículas más finas de la superficie de la presa de jales y el agua puede lixiviar formas solubles o transportar coloides al subsuelo o aguas subterráneas.

En los cuerpos receptores (agua, suelo y aire) las especies de As pueden ser reducidas u oxidadas, dependiendo de las condiciones del medio. Si durante su transporte el As se reabsorbe, la distancia recorrida se reduce en forma importante (ver sección 1.3 *Comportamiento del As en el suelo*)

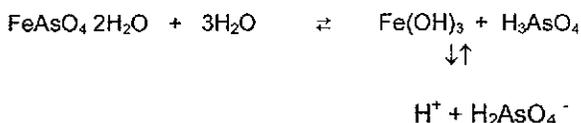
Existen en la literatura reportes sobre la contaminación con As y otros EPT de suelos cercanos a las minas y a sitios de beneficio de los minerales (Woolson, 1983; Howell, 1994). Estos problemas se han relacionado directamente con la proximidad y la dirección de los vientos del sitio de beneficio (Díaz Barriga *et al.*, 1997). En muchas ocasiones, la contaminación tiende a ser restringida, por lo que dependiendo de las condiciones locales, pueden concentrarse diversas EPT en los suelos y acuíferos de las zonas cercanas a las minas (Howell *et al.*, 1994).

Los EPT asociados a la contaminación atmosférica derivada de actividades mineras son, por lo general, inmovilizados o retenidos en el horizonte superficial del suelo, concentrándose en los primeros centímetros, ya que pueden acumularse en el humus (Parker, 1978; Miller, 1983; Hughes *et al.*, 1980) o formarse minerales secundarios insolubles, estar sujetos a reacciones de sorción o porque las condiciones climáticas o la permeabilidad del subsuelo no favorecen su transporte.

El As de zonas mineras se asocia principalmente, como ya se ha comentado, con compuestos de azufre formando arsenopirita (FeAsS) o piritita parcialmente sustituida con As. Después de la extracción de los minerales del subsuelo, la presencia de oxígeno, agua y bacterias oxidantes del azufre pueden oxidar a la piritita y a la arsenopirita, liberando  $H^+$ ,  $Fe^{+2}$ ,  $Fe^{+3}$ ,  $SO_4^{-2}$  y a los elementos vestigiales asociados (Rodie, 1995)



y se ha postulado que el arseniato férrico reacciona para formar hidróxido férrico:



Esta reacción en el sentido de izquierda a derecha que forma hidróxido férrico, lo cual libera protones (solución ácida), mientras que en sentido opuesto, la formación de arseniatos tiende a formar una solución neutra

El As que se libera de los minerales cuando se produce drenaje ácido, si no precipita o es sorbido, puede llegar a las aguas superficiales y subsuperficiales o a los suelos (Rodie, 1995)

### 1.6 Límites ocupacionales y ambientales del arsénico

Los niveles potencialmente tóxicos de contaminantes en la atmósfera o en los cuerpos de agua ha llevado al establecimiento de límites de exposición y normas de calidad del aire y del agua por parte de organismos gubernamentales (Tabla 1-1) (Galvao y Corey , 1987), aunque la presencia de diversas especies inorgánicas y orgánicas en el ambiente y sus diferentes toxicidades, hace muy difícil establecer estándares racionales de exposición.

**Tabla 1-1. Límites ocupacionales y ambientales del arsénico**

<b>Límites ocupacionales</b>	
<b>Arsénico metálico y sus compuestos solubles</b>	
TWA:	0.01 mg/m <sup>3</sup> (OSHA)
TWA:	0.2 mg/ m <sup>3</sup> (ACGIH)
TLV:	0.002 mg/ m <sup>3</sup> (NIOSH)
<b>As orgánico</b>	
TLV:	0.5 mg/m <sup>3</sup> (OSHA)
<b>Arsinas:</b>	
TWA:	0.05 ppm (OSHA)
MAC:	0.3 mg/m <sup>3</sup> (URSS)
<b>Límites ambientales</b>	
aire urbano:	0.02 µg/m <sup>3</sup>
Agua de océanos:	0.001-0.008 mg/L
Agua de ríos:	0.01-0.05 mg/L
Agua potable:	0.05 mg/L (OMS)
Suelo:	2 mg/kg
Alimentos:	0.002 mg/kg peso corporal•día (FAO/OMS)

TWA: valor promediado (time weighted average)

TLV: valor umbral límite (threshold limit value)

MAC: concentración máxima permisible (maximum admissible concentration)

### 1.7 El arsénico y los microorganismos del suelo

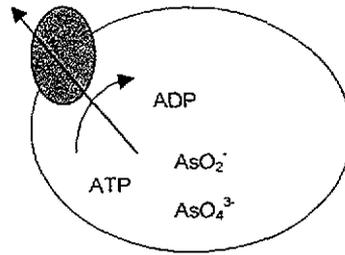
El efecto del As sobre los sistemas biológicos depende de su forma química, concentración y de las características del suelo y varía de un organismo a otro (Stolz y Oremland, 1999; Jones *et al.*, 2000). Se pueden encontrar numerosas respuestas de los microorganismos del suelo ante la presencia de As, aunque como ya se mencionó, la toxicidad se debe a la combinación reversible con los grupos tiol y por la sustitución del fósforo.

La sorción de un contaminante por las células microbianas es el primer paso para causar efectos tóxicos, pero se requiere de una mayor penetración del metal dentro de la célula. Algunos estudios han mostrado que la absorción de tóxicos por los microorganismos es vía la solución del suelo y han puesto énfasis en la importancia de la competencia entre los procesos de sorción/precipitación y los de solubilización, ya que influyen en la biodisponibilidad de las sustancias químicas (Welp, 1999).

Las EPT pueden introducirse a la célula por medio de mecanismos de transporte de especies químicamente similares y que son esenciales para el metabolismo celular; por ejemplo,  $\text{Cd}^{2+}$  usa el sistema de transporte del  $\text{Mn}^{2+}$ ; los oxianiones del As pueden ser sustratos para el mecanismo de transporte de los fosfatos.

Por otro lado, se han reportado mecanismos de resistencia para estas especies catiónicas y aniónicas que involucran sistemas de salida específicos que pueden efectuar un transporte rápido del ion tóxico fuera de la célula (Fig. 1-5) (Cowan, 1997). Hay mecanismos presentes en algunos microorganismos que proporcionan resistencia a las concentraciones elevadas de As.

El arsénico se introduce a la célula vía el sistema de transporte del fosfato y es extraído a través de la bomba de aniones dirigida por la hidrólisis del ATP, como un mecanismo de desintoxicación.



**Fig. 1-5. Exportación del arsénito**

Se ha reportado la utilización de los oxianiones del As como aceptores terminales de electrones (ej.; respiración) (Stolz y Oremland, 1999). Los oxianiones "tóxicos" de arsenato son aceptores terminales de electrones en ciertas bacterias y proporcionan energía suficiente para el metabolismo y crecimiento. Esta reducción puede estar acoplada a la oxidación de una variedad de sustratos orgánicos que incluyen acetatos, lactatos y aromáticos (Cullen y Reimer, 1989). Los microbios que respiran oxianiones de arsénico se presentan en una amplia variedad de ambientes y no están confinadas a un género específico de bacterias (Stolz y Oremland, 1999).

La reducción del As (V) se ha reportado en microorganismos aislados que son capaces de utilizar los electrones que genera la oxidación del carbono. Sin embargo, poco se sabe de este proceso de reducción en ambientes naturales en donde, por lo general, el As (V) no es un aceptor de electrones dominante y los microorganismos capaces de reducir el As (V) representan sólo una fracción pequeña de la comunidad. Se desconoce también si estos mecanismos de desintoxicación representan una ruta importante de la reducción de As (V) en los suelos (Jones *et al*, 2000).

También existen bacterias que oxidan al arsenito, como un mecanismo protector, ya que éste es más tóxico que el arsenato. *Alcaligenes (Achromobacter)* aislada de suelos, oxida el arsenito a arsenato, *Ferrobacillus ferrooxidans* oxida la orpimenta ( $As_2S_3$ ) a arsenato y también se ha reportado la oxidación de realgar ( $As_4S_4$ ), arsenopirita ( $FeAsS$ ) y la enargita ( $Cu_3AsS_4$ ) con liberación de arsenato, aunque también se encuentra arsenito en el medio (Cullen y Reimer, 1989).

También se ha documentado la reducción microbiana de As (V) a As (III) como un mecanismo de desintoxicación. Tal es el caso de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *S. xylois* en donde este mecanismo está controlado por genes *ars* que codifican para la reducción de As

(V) vía As (V) reductasa, seguido por la expulsión del As (III) de la célula (Tamaki y Frankenberger, 1992).

Los mecanismos de resistencia mejor caracterizados están codificados por los operones *ars* de bacterias Gram-positivas o Gram-negativas, que se encuentran en los cromosomas o en plásmidos (Rosen, 1999).

La resistencia codificada por cromosomas se presenta por la activación de una bomba que permite la entrada selectiva del fosfato. En las bacterias están presentes dos mecanismos de absorción de fosfatos: Pit (transporte de fósforo inorgánico (P<sub>i</sub>)) y Pst (transporte específico del fosfato). El sistema Pit no discrimina entre el fosfato y el arsenato. Durante periodos en los que hay ausencia de fosfato o se presenta As en grandes concentraciones, se activa el sistema Pst, en donde hay mayor afinidad por el fosfato. La activación del sistema Pst confiere a la célula mayor resistencia debido a la absorción reducida del arsenato (Tamaki y Frankenberger, 1992)

La resistencia codificada por plásmidos la proporciona un flujo acelerado de arsenato hacia afuera de la célula. Una bomba asociada a la membrana exporta arsénico, pero no fosfato fuera de la célula. Este tipo de resistencia es distinta al sistema Pst codificado por cromosomas y se suma la resistencia de ambos (Tamaki y Frankenberger, 1992; Rosen, 1999; Driessen *et al.*, 2000)

### **1.8 Evaluación de suelos contaminados: un enfoque biológico**

Las primeras observaciones de los efectos de las EPT sobre los procesos microbianos datan desde principios del siglo pasado, pero no fue sino hasta la década de 1960, cuando se reportaron efectos adversos severos sobre el ambiente ocasionados por las emisiones de fundiciones que contienen diversos metales y no metales potencialmente tóxicos, como el As, que cobraron fuerza los estudios sobre la afectación a los microorganismos del suelo, así como sobre sus procesos metabólicos (Giller *et al.*, 1998) Otro de los problemas que se identificó fue el aumento de EPT en los lodos residuales de las plantas de tratamiento de agua.

A partir de 1970, en muchos países europeos se empezaron a implementar medidas sobre las concentraciones permitidas de metales en lodos residuales que se utilizaban para fertilizar suelos agrícolas. Esta medida tenía como objeto proteger a las plantas de cultivo, a los animales y humanos que, directa o indirectamente se alimentan de ellas (Giller *et al.*, 1998).

---

Sin embargo, fue mucho más tarde cuando se consideraron los efectos de las elevadas concentraciones de EPT en los suelos "mejorados", sobre los microorganismos del suelo agrícola (Witter, 1992)

Los EPT persisten en el suelo cuando su lixiviación es un proceso lento y tienden a acumularse en ellos. La evaluación de la afectación por la acumulación de metales, debe incluir, además de los niveles de concentración y los alcances de la dispersión de los contaminantes, múltiples factores que gobiernan la acción tóxica del contaminante; además, no sólo comprende los efectos potencialmente dañinos sobre plantas, animales y hombres, sino que también deben considerarse los efectos sobre el suelo y sus actividades (Welp, 1999), ya que se ha reportado que la contaminación de suelos con EPT tiene efectos sobre la biología del suelo y afectan los procesos bioquímicos del mismo (Landis y Yu, 1995).

La naturaleza viva y dinámica del suelo obliga a evaluar las alteraciones de sus propiedades, para identificar cualitativa o cuantitativamente cualquier pérdida en su calidad (Trasar-Cepeda *et al.*, 2000) y en su salud<sup>8</sup> (Doran *et al.*, 1996)

La salud del suelo se ha definido como "la capacidad continua de un suelo para funcionar como un sistema viviente, dentro de un ecosistema; para sostener la productividad biológica, mantener la calidad del aire, del agua y promover la salud de plantas, animales y el hombre" (Doran *et al.*, 1996).

Los microorganismos, la flora y la fauna son agentes muy importantes para los innumerables procesos que se desarrollan en los suelos que incluyen procesos tales como: la descomposición de la materia orgánica (residuos animales y vegetales) y su transformación en humus; la liberación de nutrimentos inorgánicos, las transformaciones del nitrógeno desde su estado de oxidación 0 hasta 5+ y viceversa; desintoxicación de sustancias extrañas que entran al sistema (Dick, 1997, Obbard, 2001).

Sin embargo y, a pesar de que detener el deterioro de los suelos es esencial para la sobrevivencia humana (Pankhurst *et al.*, 1997), la evaluación de su "salud" y el desarrollo de "estándares de calidad" han recibido poca atención, en comparación con los estándares de

---

<sup>8</sup> Los términos "calidad del suelo" y "salud del suelo" se emplean comúnmente como sinónimos; ya que se relacionan estrechamente, aunque el primero se refiere a una calificación respecto a un determinado uso de suelo, por ejemplo, la producción de un vegetal (fertilidad); mientras que la "salud del suelo" integra atributos ecológicos del suelo asociados con el mantenimiento de la capacidad funcional del mismo, como es la biodiversidad o la estructura de la red alimentaria (Doran *et al.*, 1996)

---

calidad del agua y del aire (Dick, 1997), además, los cambios pueden ser muy lentos y difíciles de cuantificar.

La evaluación debe incluir procesos del suelo que sean sensibles a las presiones causadas por las perturbaciones externas. Se sugiere que las propiedades biológicas y bioquímicas más útiles para detectar el deterioro de la calidad y salud del suelo son aquellas que están estrechamente relacionadas con los ciclos de nutrimentos, incluyendo la respiración, biomasa de microorganismos, capacidad de mineralización del nitrógeno, degradación de la materia orgánica y actividades de las enzimas del suelo (Trasar-Cepeda *et al*., 2000). Las enzimas<sup>9</sup> han sido utilizadas para evaluar el efecto de ciertas medidas de restauración en suelos impactados por la minería y otras actividades industriales (Dick, 1992).

Aunque los indicadores moleculares o fisiológicos de estrés químico antes mencionados se han utilizado para diagnosticar el grado de afectación y eventualmente para predecir los efectos de un contaminante, no se ha demostrado su poder de predicción a nivel poblacional, de comunidad o de ecosistema. Sin embargo, de acuerdo a Manahan, (1990) los bioindicadores son una herramienta útil para el monitoreo ambiental para medir exposición. Cabe señalar que no es suficiente con medir exposición, sino que deben considerarse otros factores, especialmente, la concentración activa del EPT en los organismos y/o los efectos del contaminante sobre el medio que interacciona con el mismo (Landis y Yu, 1995).

---

<sup>9</sup> Las enzimas son proteínas que funcionan como catalizadores de reacciones biológicas; presentan la misma forma (conformación e integridad química) y la misma concentración antes y después de la reacción catalítica, es decir, no se consume durante el curso de la reacción y puede ser usada repetidamente para reaccionar con otras moléculas (Dugas, 1995).

Los catalizadores operan reduciendo la energía de activación ( $G^{**}$ ) de la reacción estabilizando el estado de transición. La  $G^{**}$  es la diferencia de energía libre entre los reactivos y el estado de transición. Esta reducción puede alcanzarse por estabilización del estado de transición (por lo tanto, reducción de energía libre) o porque el catalizador encuentra otra ruta de menor energía para la reacción (Bugg, 1997).

### 1.8.1 Actividad enzimática en los suelos

La composición de la comunidad microbiana determina su potencial para sintetizar enzimas y cualquier afectación debida a factores ambientales, podría reflejarse en el nivel de actividad enzimática de los organismos

Algunas enzimas se han usado como indicador del potencial de los suelos para mantener los procesos bioquímicos (Dick, 1997; Brzezinska *et al.*, 1998), así como para medir el grado de impacto de un contaminante, aun si se encuentra por debajo de límites máximos permisibles (Manahan, 1990).

Por su naturaleza, que abarca funciones de carácter específico e integral, la actividad enzimática en el suelo se ha relacionado con la productividad de las plantas, la biomasa microbiana, el impacto de los contaminantes en el suelo, el estado de los suelos restaurados, etc. (Dick, 1997). Sin embargo, la gran diversidad de métodos utilizados para medir las actividades enzimáticas han impedido una comparación entre los resultados obtenidos.

A mediados del siglo pasado, Hoffman y Seegerer propusieron el uso de las enzimas, como índice de fertilidad del suelo, basados en la idea de que las enzimas integran los efectos del clima, cultivo, fertilidad y otras propiedades edáficas (Dick y Tabatabai, 1993).; pero Skujins (1978) manifestó que no se puede considerar esta actividad como un índice de fertilidad, ya que la actividad enzimática es específica para un sustrato y está estrechamente relacionada con la materia orgánica del suelo, y menciona que no siempre refleja el estado nutrimental.

Posteriormente se propuso que la actividad conjunta de algunas enzimas es un indicador para predecir la fertilidad del suelo, ya que puede reflejar la disponibilidad relativa de nutrimentos, especialmente de aquellos que provienen de la degradación de la materia orgánica (Dick, 1992) Ejemplos de ello son la relación positiva que se ha observado entre la actividad de la fosfatasa y varias formas de fósforo (P) en el suelo; entre la actividad de las fosfatasas ácida y alcalina y el agotamiento de P inorgánico; entre la sulfatasa y la cantidad de azufre (S) adsorbido y disponible (Dick y Tabatabai, 1993)

En climas áridos o semiáridos, los suelos pueden acumular sales solubles debido al uso inadecuado del suelo, a procesos naturales o a contaminación, lo que causa un desbalance en la disponibilidad de nutrimentos y disminuye el potencial osmótico de la solución del suelo, afectando negativamente la biomasa y, por lo tanto, la actividad enzimática del suelo. García

---

*et al* (1994) encontraron una correlación negativa entre la conductividad eléctrica del suelo y las actividades de la deshidrogenasa (DHA) fosfatasa, ureasa, y  $\beta$ -glucosidasa

Asimismo hay evidencias de que ciertas enzimas pueden ser usadas para evaluar el metabolismo anaeróbico e indirectamente el nivel de oxido-reducción (pe) de un suelo. De acuerdo a Friedel *et al.* (1994), como la DHA utiliza O<sub>2</sub> u otros compuestos como aceptor terminal de electrones, su actividad se puede relacionar con cambios en la población microbiana y con el potencial de óxidorreducción del suelo.

Los efectos de los EPT también pueden ser evaluados con la medición de la actividad enzimática, ya que es inhibida por éstos a través de formación de complejos con el sustrato; enlaces con grupos activos de las enzimas o reacciones con el complejo enzima-sustrato. Por ejemplo, el As reacciona con los grupos sulfhidrilo de las proteínas, causando inactivación o inhibición de la actividad enzimática (Nriagu, 1990) Pancholy *et al* en 1975 propusieron que las actividades de la ureasa y la DHA pueden usarse como indicadores para *monitorear* la reforestación de los terrenos aledaños a una fundición abandonada de zinc, en Oklahoma, EEUU y también se ha usado a la ureasa, que requiere níquel, para evaluar la disponibilidad de ese metal (Dick y Tabatabai, *op cit.*).

Debe considerarse que la naturaleza y grado de inhibición de las enzimas del suelo por diversos elementos, se relaciona estrechamente con el tipo de suelo (Speir *et al.*, 1992). Por ejemplo, suelos de textura gruesa, baja capacidad de intercambio catiónico (CIC) y bajo contenido de materia orgánica causan mayor inhibición en la actividad de algunas enzimas, ya que se reduce el potencial del suelo para inactivar metales vía reacciones de adsorción o de formación de complejos, y aumenta la disponibilidad de EPT

Pascual y colaboradores (1998) hacen una revisión sobre las funciones en las que intervienen diversas enzimas; reportan que las óxidorreductasas e hidrolasas actúan sobre los procesos básicos de la descomposición de la materia orgánica y pueden usarse como biomarcadores de las reacciones que se presentan en suelos contaminados o degradados. La actividad de la DHA se ha usado en gran medida para evaluar la actividad metabólica de los microorganismos del suelo y para comparar suelos no cultivados, cultivados y dentro de éstos, con cultivos diferentes; también para evaluar los efectos causados por la adición de desechos municipales y para la caracterización de la actividad biológica general. La actividad de la catalasa, puede relacionarse con la actividad metabólica de los microorganismos aeróbicos y se ha usado como un indicador de la fertilidad del suelo; la de la catalasa, catalizan la

---

hidrólisis de sustratos con uniones peptídicas. Las fosfatasas son consideradas como enzimas claves en el ciclo del fósforo en el suelo y las variaciones en su actividad, además de indicar cambios en la cantidad y calidad de los sustratos fosforados del suelo, se ha reportado que son buenos indicadores del estado biológico del suelo. La  $\beta$ -glucosidasa es una enzima que cataliza la hidrólisis de  $\beta$ -glucósidos y su actividad puede dar una idea de la descomposición de la materia orgánica. En un estudio en el que se comparan varias actividades enzimáticas en suelos mejorados con desechos municipales, se encontró que la actividad de las DHAs mostró la mejor correlación con las otras actividades enzimáticas (Pascual *et al.*, 1998) y la de las catalasas, la relación más baja. También se ha reportado que la xilanasa se ha usado, para la caracterización del ciclo del carbono y la proteasa, para el ciclo del nitrógeno (Wenzel *et al.*, 1995)

También se encuentran en la literatura diversos bioensayos sobre la actividad de las enzimas en los suelos, como la fosfatasa y la ureasa, que dan como resultado la suma de las actividades de las enzimas en los organismos y de las extracelulares, las cuales pueden encontrarse en la solución del suelo o adsorbidas en la superficie de las arcillas o formando complejos con coloides húmicos (Boyd y Mortland, 1990; Nannipieri y Gianfreda, 1998, Moreno *et al.*, 2001). Las enzimas extracelulares (exoenzimas) son liberadas por lisis celular o como excreciones. La mayor parte de estas enzimas persisten como tales por breve tiempo y se descomponen o se desnaturalizan rápidamente, pero algunas enzimas extracelulares se estabilizan en la matriz del suelo por enlaces de hidrógeno, iónicos o covalentes y conservan su potencialidad catalítica (Skujins, 1978; Dick y Tabatabai, 1993).

La actividad enzimática extracelular no está sujeta a los mismos mecanismos de respuesta a las condiciones ambientales que los microorganismos vivos y además existen otros catalizadores abióticos en el suelo, por lo que para interpretar los resultados de los experimentos es importante distinguir la contribución de cada grupo (Fig. 1-6)

Actividad enzimática en el suelo							
Enzimas extracelulares							Enzimas endocelulares de microorganismos vivos, plantas, raíces y fauna del suelo
Enzimas acumuladas					Enzimas liberadas continuamente		
Fijas a componentes celulares microbianos			No asociadas a componentes celulares		De microorganismos	De raíces de plantas	
O r i g e n				Originadas de microorganismos y fauna del suelo			
				Enzimas endocelulares de células rotas	Enzimas extracelulares		
Localización en el suelo	Células no proliferantes	Células muertas intactas	Fragmentos celulares	En fase líquida			En organismos
				Unido a componentes del suelo			

(Tomado de Skujins, 1978)

**Fig.1-6. Esquema conceptual de la composición de la actividad enzimática en suelos**

Para el estudio del impacto de contaminantes ambientales sobre las poblaciones de los microorganismos del suelo se ha empleado una enzima asociada directamente con la actividad microbiológica que se inactiva rápidamente con la muerte celular. El indicador de la actividad biológica de los microorganismos en el suelo más ampliamente estudiado es la enzima DHA, ya que se presenta sólo en células vivas (Tabatabai, 1994). La DHA puede reflejar la actividad oxidativa de la microbiota del suelo (Dick y Tabatabai, 1993), por lo que se ha usado frecuentemente como una medida de la alteración causada por plaguicidas o por EPT (Brzezinska *et al.*, 1998).

### 1.8.2 Deshidrogenasas

Las DHA son enzimas endocelulares esenciales implicadas en la transferencia de la energía oxidativa de las células microbianas; catalizan la transferencia de dos átomos de hidrógeno de un sustrato reducido (generalmente un alcohol) a un aceptor de electrones (Stryer, 1995, Dugas, 1995).

La actividad de las DHA es una medida de los procesos de oxido-reducción del metabolismo microbiano, por lo que refleja la actividad oxidativa microbiana del suelo (Dick y Tabatabai, 1993; Friedel *et al.*, 1994).

Las DHA están dentro de la clase de las óxido-reductasas (clase 1), enzimas involucradas en la transferencia de equivalentes reductores (uno o dos protones, junto con los electrones) de un sistema a otro (Dugas, 1995); y pertenecen a la subclase 1.1, que agrupa a las enzimas que contienen grupos CH-OH como donadores de electrones; y más específicamente a la sub-subclase 1.1.1 que tienen a los nucleótidos de piridina como aceptores de electrones (Koolman y Röhm, 1996)

Las coenzimas<sup>10</sup> asociadas con las DHA son, generalmente, los piridín dinucleótidos NAD<sup>+</sup> y NADP<sup>+</sup>; que transfieren dos electrones y un protón (iones hidruro, H<sup>-</sup>) y actúan siempre en forma soluble. El grupo activo es el anillo de nicotinamida. El NAD<sup>+</sup>, en su forma reducida NADH transfiere los electrones, a través de una cadena de transporte electrónico, desde las rutas catabólicas a la cadena respiratoria y juega un importante papel en el metabolismo energético.

También se encuentran en el mecanismo de las DHA las flavinas FMN y FAD, que son coenzimas que generalmente están unidas fuertemente a la enzima. El grupo activo oxido-reductor en ambas coenzimas es el grupo flavina (isoaloxacina). La estructura formada por tres anillos puede ser reducida al aceptar hasta dos electrones y dos protones (Koolman y Röhm, 1996; Bugg, 1997)

El papel de las DHA en los microorganismos es el siguiente:

---

<sup>10</sup> son moléculas "auxiliares" que actúan como aceptores temporales del grupo que se transfiere (acarreadores intermedios de electrones) (Dugas, 1995).



27.2 mg/kg (21.9-33.5 mg/kg), el 25%; 168 mg/kg (138-210 mg/kg), el 50% y 1430 mg/kg (851-1905 mg/kg) el 75%. El índice de toxicidad<sup>11</sup> calculado fue de 53.

Las concentraciones de As de la solución que produjeron inhibición en la actividad de las DHAs (95% de confianza) fueron: 0.29 mg/L (0.19-0.46 mg/L) el 10%; 2.67 mg/L (1.86-3.73 mg/L), el 25%; 55.5 mg/L (40.9-78.7 mg/L), el 50% y 1855 mg/L (805-3430 mg/L), el 75%. El índice de toxicidad calculado fue de 695 (Welp, 1999).

Para medir la actividad de las DHA, se adicionan a las muestras de suelo aceptores de electrones alternativos, como los pigmentos redox de tetrazolio, que toman electrones de las reacciones de oxidación/reducción microbianas y se reducen intracelularmente por componentes del sistema de transporte de electrones o DHAs y forman formazanes, que son precipitados coloreados, insolubles en agua. Estos precipitados pueden ser detectados dentro de las células individuales por microscopía o cuantificados en extractos celulares por espectrofotometría (Friedel *et al.*, 1994, Bhupathiraju *et al.*, 1999) y han sido usados frecuentemente como indicadores de la actividad respiratoria y viabilidad microbianas, especialmente en estudios fisiológicos y ecológicos (Smith y McFeters, 1997).

El primero en proponer la reducción de cloruro de 2, 3, 5 trifeniltetrazolio (TTC) a trifenilformazan como un procedimiento estándar para medir las DHAs del suelo fue Lenhard, en 1956. Desde entonces, el método se ha aplicado para investigar los efectos de tóxicos orgánicos e inorgánicos sobre la microbiota del suelo (Malkomes, 1991).

El cloruro de trifeniltetrazolio (TTC) ha sido usado principalmente como aceptor de electrones formando trifenilformazán (Thalmann, 1968 en Friedel *et al.*, 1994). Sin embargo, la reducción de TTC presenta algunas desventajas:

es inhibido por la presencia de O<sub>2</sub>, es muy tóxico para los microorganismos; la concentración usada depende del tipo de suelo, por lo que es necesario ajustarla dependiendo de la textura y capacidad de adsorción de los suelos; se requiere de largos tiempos de incubación debido a que la reactividad del TTC es más bien baja; comparado a la liberación de CO<sub>2</sub> o a la toma de O<sub>2</sub>, sólo un pequeño porcentaje de los equivalentes electrones transferidos se registra por la reducción del TTC (Howard, 1972; Benefield *et al.*, 1977); la extracción del trifenilformazán (TPF) es baja, el error estándar del método es muy alto. Estas desventajas se evitan, en parte,

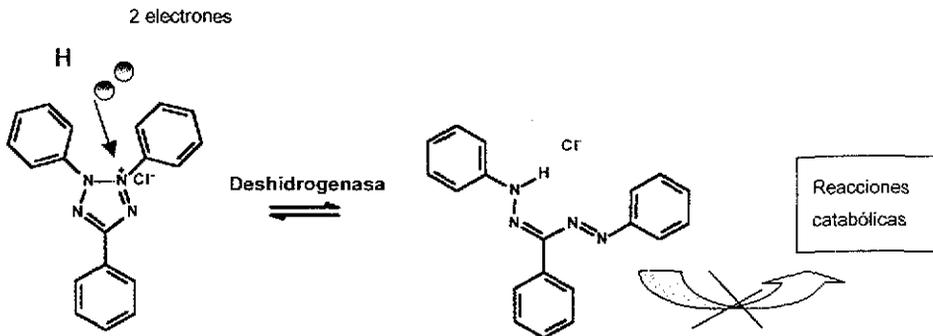
---

<sup>11</sup> El índice de toxicidad está definido como la concentración que causó el 75% de la inhibición dividido entre la concentración que causó inhibición al 25% (Welp, 1999)

con el uso de otras sales de tetrazolio. Como un método alternativo al TTC como aceptor de electrones, Benefield *et al.* (1977) y Trevors (1984) introdujeron el uso de cloruro de 2-p-iodofenil-3-p-nitrofenil-5-feniltetrazolio (INT) y se ha usado para medir el potencial respiratorio en poblaciones microbianas por extracción orgánica y determinación colorimétrica de la producción de INT-formazán (INTF) (Smith y McFeters, 1997)

El uso de sales de INT ha sido descrito por varios autores (Benefield *et al.*, 1977; Trevors *et al.*, 1982; Trevors, 1984; Farini, 1988; Griffiths, 1989; von Mersi y Schinner, 1991; Spothelfer-Magaña y Thalmann, 1992) Se ha comparado el uso del TTC con el INT y encontraron que el INT es menos tóxico para los microorganismos, se reduce más rápido, por lo que usa tiempos de incubación más cortos y la reducción se ve mucho menos afectada por la presencia de O<sub>2</sub> y por el tipo de suelo; es un aceptor de H más efectivo que TTC, es decir, se obtiene un mayor porcentaje de la tasa transferencia de electrones

El método utiliza el sistema redox de los microorganismos para su funcionamiento. El potencial redox para el par INT/INTF es de -90 mV, que es menos negativo que el del NAD<sup>+</sup>/NADH, que es de -320 mV. Al estar compitiendo en un sistema redox el INT y el NAD<sup>+</sup> pueden ocupar el sitio activo de la deshidrogenasa, pero el INT tiene mayor afinidad por los electrones (son 2 electrones y un protón) del sustrato que va a oxidar y el formazán que se produce ya no conduce al ion hidruro a los siguientes pasos de la ruta catabólica, como lo haría el NADH. La reacción que se presenta en los microorganismos es la siguiente:



**Fig. 1-7. Reducción del NAD<sup>+</sup> y de las sales de tetrazolio.**

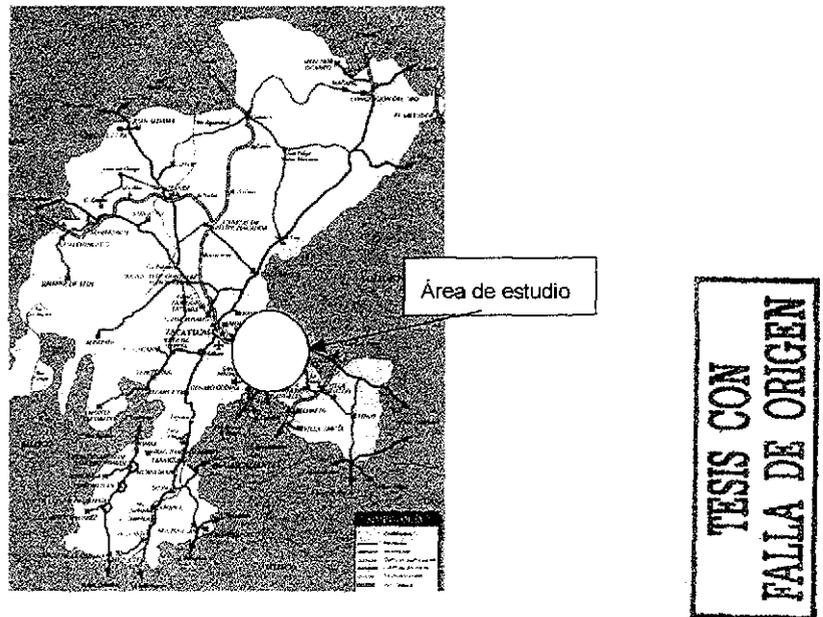
En la parte superior y media de la figura 1-7, NAD<sup>+</sup> se reduce a NADH. En la reacción catalizada por la DHA, se transfieren 2 electrones y dos hidrógenos. De los 2 hidrógenos, solo uno participa en la reacción. Posteriormente, el NADH reduce a otros compuestos. En la parte

inferior de la figura, la sal de tetrazolio acepta un hidrógeno y dos electrones, en presencia de la DHA, de manera similar al  $\text{NAD}^+$ . Las sales de tetrazolio actúan como un inhibidor de la  $\text{NAD}^+$ . El producto no puede utilizarse en reacciones subsecuentes del metabolismo, pero es posible medir su actividad metabólica debido al desarrollo de color.

## 2 DESARROLLO DEL ESTUDIO

### 2.1 Descripción del Área de Estudio

El área de estudio se localiza en la región sudoriental del estado de Zacatecas (Figura 2-1) Se encuentra enclavada en la Provincia de la Mesa Central, ocupando la parte central del territorio zacatecano, colinda al Norte y Oriente con la Sierra Madre Oriental, al Oeste con la Sierra Madre Occidental, y al Sur con la provincia del Eje Neovolcánico. La altura media del terreno es de 2,200 msnm.



**Fig. 2-1. Localización del área de estudio**

Específicamente, la mina se encuentra a una altitud de 2,270 msnm. La geomorfología local se caracteriza por lomeríos redondeados, pequeñas montañas y mesas con superficies cumbrales planas. Las rocas expuestas más antiguas en la vecindad de la mina, pertenecen a una secuencia vulcano-sedimentaria formada por tobas andesíticas, cuarcitas y arcillas afectadas por el metamorfismo de bajo grado y pueden estar correlacionadas con la formación Zacatecas del Triásico Superior marino (SEMIP, 1991).

El clima predominante es de tipo seco (BS<sub>1</sub>), la temperatura media anual es de 16°C y la precipitación pluvial media es de 510 mm. Se presentan dos épocas de lluvia, una principal en verano y otra, de menor importancia, en invierno, lo cual genera corrientes de agua intermitentes y corrientes perennes, en la porción suroeste que drenan hacia el río Santiago que desemboca en el océano Pacífico (Sánchez-Crispín, 1997).

En Zacatecas no hay lagos naturales, solamente pequeñas lagunas temporales en época de lluvias. Los cuerpos de aguas superficiales existentes son presas. Los recursos hídricos superficiales son muy escasos. Los valles de Fresnillo, Calera, Chupaderos, Loreto y Ojocaliente presentan acuíferos apropiados para explotación, estos valles presentan acuíferos de tipo libre, con alto potencial de aprovechamiento.

Los suelos predominantes son: Litosol éútrico de textura media, horizonte petrocálcico, a menos de 50 cm de profundidad y Xerosol háplico de textura media, duripán a menos de 50 cm de profundidad; casi todos ellos son suelos de tipo aluvial, compuestos de rocas sedimentarias (lutita-arenisca). Estas condiciones limitan fuertemente la diversificación del uso del suelo, específicamente la explotación, tanto agrícola como pecuaria, que en estas localidades está muy restringida.

El tipo de vegetación imperante en esta zona conforma al límite sureste del Desierto Chihuahuense, caracterizado por la presencia de *Larrea* sp. Este tipo de vegetación está dominado por nopaleras, matorrales espinosos así como, asociaciones especiales de vegetación: nopalera-matorral espinoso y nopalera-izotal. Existen, además, pastizales y terrenos de cultivo de temporal (maíz-frijol) en poca proporción y con mínimos rendimientos.

Las actividades económicas más importantes son las de tipo extractivo; la minería aglutina a una PEA (población económicamente activa) de 313 habitantes en el municipio, lo que representa un 11.9% de la PEA total municipal (Sánchez-Crispín, 1997).

Los primeros registros históricos de la zona minera datan de 1705, aunque los datos de explotación y beneficio, provienen de mediados del siglo XVIII (SEMIP, 1991), que corresponde a los tiempos de la Colonia Española, tiempo en el que se extraía principalmente la plata. En esa época los desechos de los procesos de beneficio se depositaban en los alrededores de la mina y junto a los ríos. Estos desechos acumulados pueden observarse actualmente en el poblado.

La etapa de explotación más reciente reinicia a principios de la década de 1980. Los minerales de mena presentes en el yacimiento en la zona de sulfuros de la zona minera bajo estudio son: feibergita, tetrahedrita, galena argentífera, esfalerita y marmatita, y los sulfuros de ganga están formados por pirita, pirrotita, arsenopirita, cuarzo, calcita, calcopirita, bornita y fluorita. El

yacimiento presenta en su superficie una zona de oxidación seguida por una de transición a sulfuros, que es la que conforma la principal zona que es explotada hoy en día (Ordóñez, 1986SEMIP, 1991)

La mina es de explotación a cielo abierto de la que se extraen plomo, plata y zinc. A través del proceso de trituración y molienda se obtienen partículas de alrededor de 340  $\mu\text{m}$ , las cuales se sujetan a un proceso de flotación. Una vez extraídos los concentrados de valor comercial, los desechos mineros son transportados mediante un sistema de bombeo a través de tuberías a una presa de confinamiento (presa de jales) ubicada a 6 km al norte de la mina. Los desechos mineros, según informes internos de la empresa minera (1997), contienen 0.4% de As y 0.1% de Pb. La presa de jales inicia su actividad en 1982; ocupa actualmente una extensión de 3.83  $\text{km}^2$ , las paredes de contención se han ido construyendo con los mismos jales; la presa está expuesta a factores como viento y lluvia, por lo que se observa dispersión de polvos en sitios cercanos a la misma.

## 2.2 Materiales y métodos

### 2.2.1 Muestreo

Se realizó una visita de reconocimiento a la presa de jales y zonas aledañas (noviembre de 1996) para evaluar las condiciones del área y establecer el diseño de muestreo. Se observó el arrastre de partículas de jales hacia los suelos cercanos a la presa, particularmente en el área que colinda con el norte de la presa. Aquí se registra, inclusive, un cambio de color en la superficie de los suelos a causa de los jales depositados en este sitio

Ya que no se cuenta con estaciones meteorológicas cercanas se determinó, con base en la observación de las formas geomorfológicas en la presa de jales, especialmente las viseras eólicas (Figura 2-2), que la dirección predominante de los vientos es hacia el noreste. La orientación de los vientos cambia a lo largo del año, pero los representantes de la empresa y de los habitantes de la zona informaron que la dirección predominante es hacia el NE, lo cual se confirmó a través de la observación de la orientación de las viseras eólicas durante las visitas posteriores que se realizaron para la etapa de muestreo (febrero y noviembre de 1997 y mayo de 1998).



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**Fig. 2-2. Viseras eólicas en la presa de jales**

Durante la visita previa se colectaron muestras de jales que se encontraban aún húmedos debido a que habían sido depositados recientemente y de jales secos, con un tiempo de depositación mayor a 5 años; también se tomaron muestras de suelos cercanos al norte de la presa (aprox a 100 m) y de suelos de una zona a 200 m al oriente de la presa, en dirección perpendicular a la de los vientos predominantes. A estas muestras se les determinó el

contenido de arsénico (As), plomo (Pb) y cadmio (Cd) totales, así como conductividad eléctrica (CE), pH, sulfatos, fosfatos, carbonatos, textura. Los resultados promedio y el intervalo de confianza (95%) se presentan en la Tabla 2-1

**Tabla 2-1. Descripción de las muestras de jales y suelos colectadas durante la visita de reconocimiento**

Muestra	As total <sup>a</sup> mg/kg	Pb total <sup>a</sup> mg/kg	Cd total <sup>a</sup> mg/kg	pH	CE μS/cm	Carbonato mg/kg	Sulfatos mg/kg	Fosfato mg/kg	Clase textural	% arcilla
Jales húmedos	5,038±1583	993±21	19±5	9.1±0.1	131±8	2.18±0.01	560±3	3.3±0.01	franco- franco arenos	16
Jales secos	4,099±428	1555±346	32±5	8.4±0.4	711±82	1.92±0.1	774±36	6.3±0.1	arcillo limoso**, franco- franco limoso***	42 22
Suelos Zona Norte	6,987±1468	909±52	16±4	6.8±0.3	725±20	0.26±0.00	1024±15	19.2±0.2	areno franco	2
Suelos Zona Oriente	97±10	225±104	2±1	6.8±0.2	111±3	0.15±0.001	24±1	41.5±0.5	areno franco	3

<sup>a</sup>Total se refiere aquí al As, Cd y Pb extraíbles con HCl-HNO<sub>3</sub> \*\* capa superior (0-1 cm); \*\*\* capa subyacente (1-10 cm).

### Suelos

Con base en los datos obtenidos se planeó un muestreo sistemático que permitiera evaluar la variabilidad espacial de la dispersión de polvos provenientes de la presa de jales después de 15 años de operación.

Se seleccionaron como trazadores de la dispersión al As y Pb totales, ya que se encuentran en concentraciones totales altas, mayores que en suelos y representan dos tipos de reactividad química importantes: a) Los sulfuros de As se oxidan en contacto con la atmósfera y agua, pudiendo liberar este elemento no metálico a la solución, y b) Los sulfuros de plomo son muy insolubles y se oxidan formando sulfatos o carbonatos muy insolubles. Asimismo, se determinaron los siguientes parámetros complementarios: cadmio total, pH, conductividad eléctrica (CE) y porcentaje de carbono.

El diseño comprendió un muestreo sistemático en forma de rejilla que abarca un área de 3.5 km X 5 km con cuadrantes de 250 m X 250 m. El área de muestreo se definió de tal manera

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

---

que incluyera los suelos circundantes a la presa de jales; también se consideró la ubicación del poblado que se encuentra al sur de la presa, así como información proporcionada por sus habitantes. La rejilla se dibujó sobre un mapa topográfico (1:50,000) (INEGI, 1971) en el que se delimitó la presa de jales a partir de una imagen de satélite (impresa a escala 1:50,000) proporcionada por la empresa. Los 240 puntos de intersección de la cuadrícula definieron los sitios de colecta de suelo superficial (0-1.5 cm) (Figura 2-3). En la figura se observan los sitios de muestreo de pozos y suelos superficiales (1.5-11.5 cm).

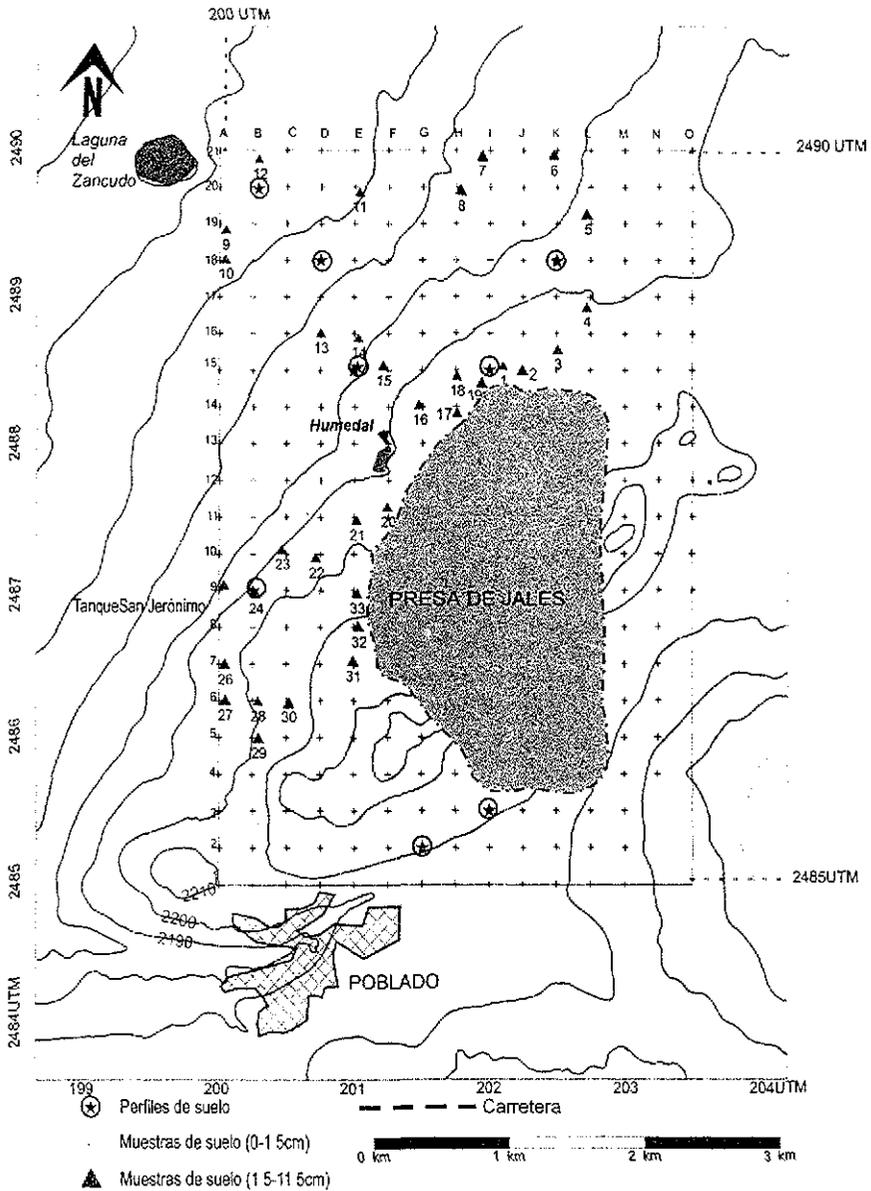


Fig. 2-3. Mapa de localización de los puntos de muestreo

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Para el muestreo de los perfiles de suelo, se seleccionaron al azar ocho puntos de la rejilla, en los que se hicieron pozos para tomar muestras de cada horizonte. Para determinar el contenido de As (III) y As(V) solubles y la medición de la actividad enzimática, se realizó un muestreo sistemático de suelos superficiales por transectos. Se eliminaron los puntos de muestreo que quedaban dentro de un terreno con actividad agrícola o en un camino. Se tomaron 33 muestras a 1.5-11.5 cm de profundidad; se retiraron los primeros 1.5 cm para evitar el muestreo directo de polvos de jales y poder evaluar los fenómenos que estaban sucediendo en el suelo.

### **Jales**

Se seleccionaron nueve sitios dentro de la presa. Cabe mencionar que durante el muestreo se observó que los jales estaban dispuestos en capas alternadas de material arenoso sedimentado y material de textura arcillosa o limosa en la superficie, mismo que al resecarse se compacta formando costras endurecidas ya que tienden a sedimentarse de forma diferencial (densidad y tamaño de partícula). Por esta razón, en cada sitio se tomó una muestra de la costra (material arcilloso o limoso) y otra de la capa subyacente (material arenoso) (Total= 18 muestras). Adicionalmente se tomaron 6 núcleos de 90 cm de profundidad (cada núcleo se compuso de 3 tubos de polietileno de 30 cm de profundidad y 10 cm de diámetro). Los núcleos se taparon y sellaron. De uno de los núcleos, elegido al azar, se tomaron submuestras cada 10 cm para su análisis.

### **VARIABLES REGISTRADAS**

Para todos los puntos de muestreo se registraron los datos siguientes: clave, localización georreferenciada del punto de muestreo, uso de suelo y observaciones (como características del microrrelieve, humedad, etc.).

### **Almacenamiento y transporte**

Las muestras fueron guardadas en bolsas de polietileno, etiquetadas y empacadas en cajas para su transporte. Las muestras de suelo superficial (1.5-11.5 cm) para los ensayos de la actividad enzimática y especiación, así como los núcleos de jales fueron guardados en bolsas de polietileno, transportadas y conservadas hasta su análisis a 4°C.

En la Tabla 2-2 se presenta una descripción de las muestras colectadas.

**Tabla 2-2. Descripción del muestreo de jales y suelos colectados en el área de estudio**

Población objeto		Muestreo	Profundidad
Suelos	Superficiales	muestreo en rejilla (240 puntos)	0-1.5 cm
	Pozos	perfiles de ocho puntos al azar	Depende de cada horizonte. Cada uno se colecta por separado
	Superficiales	33 puntos en transectos al N y W de la presa de jales.	1.5-11.5 cm
Jales	costra y capa subyacente	9 puntos de la presa de jales	Costra: 0 a 1 cm de profundidad Capa subyacente: 1-10 cm
	núcleos	6	0-30 cm, 30-60 cm y 60-90 cm c/u

### 2.2.2 Métodos analíticos<sup>12</sup>

Todos los reactivos fueron grado analítico y se prepararon con agua tratada con el sistema Nanopure, Barnstead (18.3 MΩ). La cristalería fue tratada con HNO<sub>3</sub> (1:1 v/v) grado técnico durante un mínimo de 24 horas, y enjuagada y lavada con un detergente sin fosfatos. El enjuague final se hizo con agua desionizada (Sistema Nanopure)

#### **Arsénico y plomo totales en jales y suelos superficiales (0-1.5 profundidad)**

Los análisis se hicieron por duplicado

- **Digestión:** Digestión ácida por microondas ( HCl y HNO<sub>3</sub>)
- **Arsénico total:** Espectroscopía de absorción atómica (EAA) (Varian, SpectrAA 10 Plus) -generador de hidruros (Varian, VGA 77) (Varian, 1996).
- **Plomo total:** EAA- flama (Varian, SpectrAA 10 Plus) (Varian, 1989).

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

<sup>12</sup> Los métodos se describen ampliamente en el Apéndice Métodos

**As soluble en agua: total As (III) y As (V)**

Todos los análisis se hicieron por triplicado.

**Extracción de As**

Extracción de As (relación 1:4, suelo: agua destilada) durante una hora de agitación (100 rpm) en un agitador mecánico. La muestra fue filtrada con filtro Whatman 542. Se tomó una alícuota para la determinación de As total. Una parte del extracto filtrado se volvió a filtrar con sistema de vacío (0.45  $\mu\text{m}$ ) para la especiación de As.

**Determinación de As total**

La concentración de As soluble total se cuantificó por EAA-generador de hidruros (Varian, VGA 77) (Varian, 1996)

**Determinación de As (III) y As (V)**

La separación cromatográfica (Geiszinger *et al.*, 1998, modificado) se realizó conforme las muestras salían del proceso de agitación y filtrado, a través de un sistema acoplado Bomba ternaria (Varian 9012)-Generador de hidruros (Varian VGA 77) y se usó un EAA (Varian, SpectrAA 110) como detector. La separación se llevó a cabo en una columna de intercambio aniónico Supelcosil LC-SAX 1 (Supelco, Bellefonte, PA) (25 x 4.0 mm i.d., con partículas de sílica gel de 5  $\mu\text{m}$ ). Eluyente  $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$  20 mM, pH 4.16. Flujo: 2 mL/min. Volumen de muestra: 100  $\mu\text{L}$ . La señal (mV) se obtuvo con el programa Star, versión 4.0.

Previo a la extracción, se evaluó la eficiencia del método con soluciones que contenían As (III) y As (V)

**Preparación de los estándares de As (III) y As (V)**

Se usaron sales de  $\text{NaAsO}_2$  (Fluka) para preparar los estándares de As (III) y se adicionaron con 1 mg/mL de ácido ascórbico (Sigma) para evitar su oxidación en el ambiente. Para preparar los estándares de As (V) se utilizó  $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (Fluka). Las soluciones analíticas se prepararon diluyendo las soluciones madre con agua desionizada y filtrada al vacío (0.45  $\mu\text{m}$ ) antes de su uso. Se prepararon estándares de 60-900  $\mu\text{g/L}$  de As (III) y de 100-1000  $\mu\text{g/L}$  de As (V) para calibrar el sistema. Se calculó la altura del pico para establecer las curvas de calibración específicas para cada especie.

### Características generales de suelos y jales

Paralelamente se realizaron en el laboratorio por duplicado las siguientes determinaciones.

- Textura , método del hidrómetro (Ortiz *et al.*, 1993)
- pH (potenciómetro marca Fisher Scientific- Accumet) en relación 1.2.5 sólido a líquido de acuerdo a Ortiz *et al.* (1993).
- Conductividad eléctrica (conductímetro marca Conductronic) en relación 1:5 sólido-líquido (Ortiz *et al.*, 1993). Es una medida indirecta del contenido de sales, tanto en suelos como en jales
- % carbono Método pérdida de peso por ignición (Hesse, 1971).

### Determinación de la actividad de las deshidrogenasas en muestras de suelo superficial al norte y occidente de la presa de jales

Se usó el método de reducción de cloruro de 2-p-yodo-3-nitrofenil-5feniltetrazolio (INT) propuesto por Friedel *et al.* (1994). El yodonitrofeniltetrazolio formazan (INTF) formado es una medida de la actividad de las DHA (ug/g.h) Los análisis se hicieron por triplicado en las muestras de suelo (1.5-11.5 cm de profundidad) y en blancos. La concentración se determinó por espectroscopia-UV (Varian, modelo Cary3). Para diferenciar la reducción abiótica de la biótica, las muestras fueron tratadas con formaldehído y, posteriormente, con el método de Friedel *et al.* (1994) En el apéndice de Métodos, en la sección II, se describe el método utilizado, los ensayos que se realizaron para obtener las características de desempeño del método, así como sus ventajas, desventajas, interferencias y limitaciones.

#### 2.2.3 Análisis geoestadístico

Para determinar el alcance de la contaminación, es decir, hasta dónde y en qué cantidades se encuentran los contaminantes en el suelo, se construyeron mapas mediante técnicas geoestadísticas, en los que se identifica gráficamente la distribución espacial del contaminante en un momento dado, para lo cual, se preparó una base de datos georreferenciada con los resultados de las concentraciones de As y Pb totales, pH y conductividad eléctrica.

A través de un análisis geoestadístico, se elaboraron mapas de isóneas<sup>13</sup>, en los que se identifica gráficamente la variación espacial de estos parámetros dentro del área de estudio y se verifica la fuente de origen de los contaminantes. En el apéndice de Métodos, en la sección III, se describe brevemente el método utilizado

---

<sup>13</sup> Actividades realizadas en colaboración con el Dr. Fernando Avila del CIMAS de Guanajuato.

### 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 Características generales de suelos y jales

La zona presenta suelos de tipo Litosol y Xerosol que son muy someros (INEGI, 1971). La profundidad máxima detectada durante el trabajo de campo fue de 40 cm. Estos tipos de suelo están poco desarrollados, tienen capas endurecidas a menos de 50 cm de profundidad. La clase textural es predominantemente franco arenoso.

Los jales húmedos son básicos ( $\text{pH} \cong 12.0 \pm 0.5$ )<sup>14</sup>, pero según pasa el tiempo, los valores disminuyen ( $\text{pH} \cong 8.2 \pm 0.5$ ), por el efecto del  $\text{CO}_2$ , lo cual coincide con la reducción del pH observado en otras presas de jales (Craw, 1999) (Tabla 3-1)

**Tabla 3-1. pH y concentración promedio de  $\text{As}_{\text{total}}$  y  $\text{Pb}_{\text{total}}$  e intervalo de confianza (95%) en jales superficiales**

Jales superficiales	Profund. cm	pH	Arsénico (mg/kg)		Plomo (mg/kg)		Rel As/Pb
Secos	0-1	8.2-8.7	4021.7 ± 1128	1670.7 ± 347.5	2.4		
	1-15		3596.3 ± 580.9	1815 ± 417.7	2.0		
Húmedos	0-1	9.0-9.1	3748.7 ± 283.8	1132.1 ± 453.4	3.3		
	1-15		5110.6 ± 1474	1193.6 ± 352.1	4.3		
Muy húmedos	0-1	9.1	5348.5 ± 1621	1438.1 ± 667	3.7		
	1-15		6027.8 ± 2263	1210 ± 285.2	5.0		

La concentración promedio en los jales superficiales en mg/kg de  $\text{As}_{\text{total}}$  es de  $5688 \pm 1939$  y de  $\text{Pb}_{\text{total}}$ , de  $1324 \pm 476$  (Tabla 3-1) y en el perfil, de 2680 a 5498 de  $\text{As}_{\text{total}}$  y 539 a 1938 de  $\text{Pb}_{\text{total}}$  (Tabla 3-2). Las concentraciones totales se refieren en esta sección a las el As y Pb extraíbles con  $\text{HCl-HNO}_3$ .

El pH de los suelos superficiales es cercano a la neutralidad (valor promedio del pH en suelos =  $6.5 \pm 0.10$ ), a excepción de la zona que colinda con la orilla norte del confinamiento, que presenta valores más ácidos, con un valor extremo de 2.6; en este sitio la humedad es más

<sup>14</sup> Medido en campo, en el espesador de lodos de la planta de procesamiento

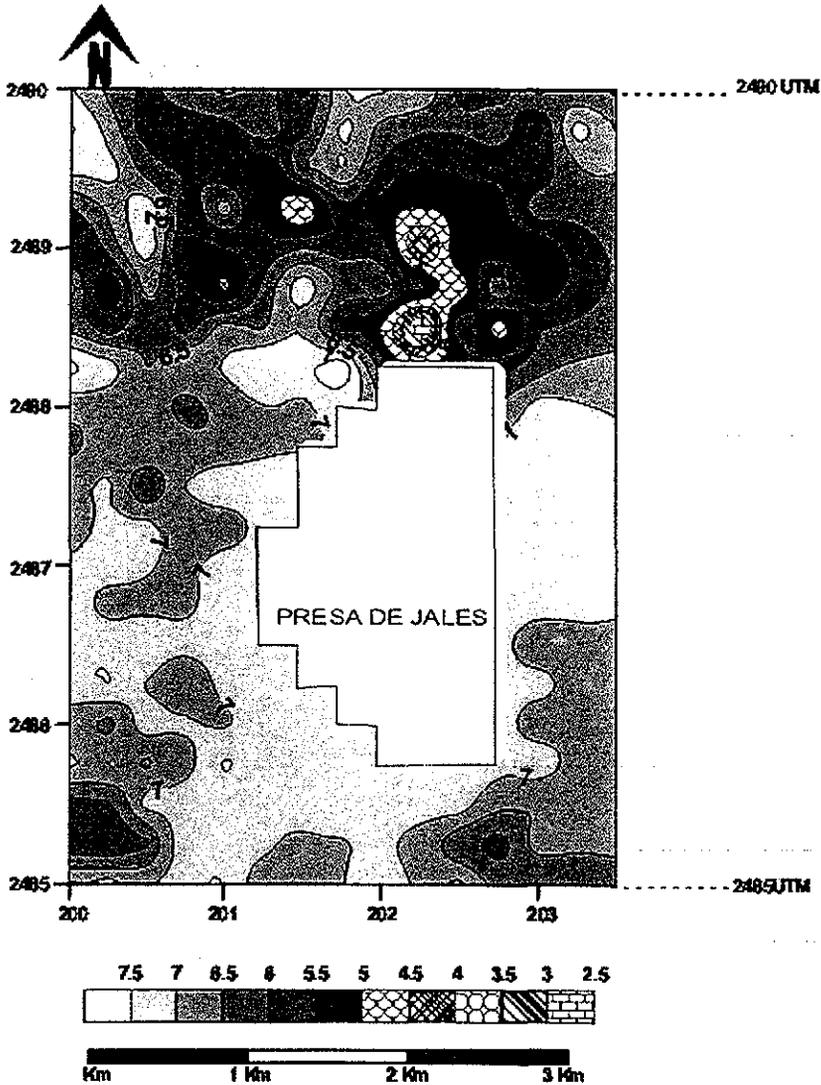
intensa y constante a lo largo del año, por lo que se generan zonas muy localizadas con drenaje ácido (Fig. 3-1; Tabla A en el apéndice de resultados)

**Tabla 3-2. pH y concentración de  $As_{total}$  y  $Pb_{total}$  en jales (0-90 cm prof.)**

Profundidad (cm)	pH	Arsénico (mg/kg)		Plomo (mg/kg)		Rel As/Pb
		Promedio	DPR* (%)	Promedio	DPR* (%)	
0-10	7.5	4283.4	1.3	927.3	0.2	4.6
10-20	7.4	3606.7	1.8	885.2	1.0	4.1
20-30	7.5	4167.1	2.2	1385.4	0.2	3.0
40-50	7.5	5497.8	-1.0	674.5	-0.7	8.2
50-60	7.5	5288.6	-2.0	1158.8	-0.5	4.6
60-70	7.5	3369.7	3.7	1556.0	-0.2	2.2
70-80	7.6	2680.1	-0.6	538.5	-0.4	5.0
80-90	7.6	2879.5	9.5	1937.7	-0.1	1.5

- DPR: significa diferencia porcentual relativa, es decir, la diferencia de las repeticiones entre el promedio (en %)

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



**Fig. 3-1. pH en suelos superficiales**

En los suelos subsuperficiales (de 1.5 a 11.5 cm de profundidad), los valores de pH varían de 5.7 a 7.7 y los de CE, de 0.16 a 0.66 mmhos/cm (Tabla 3-3)

**Tabla 3-3. Valores promedio de pH, conductividad eléctrica,  $As_{total}$  y  $Pb_{total}$ , en muestras de suelos(1.5-11.5 cm)**

Muestra	pH		CE** (mS/cm)		As total*** (mg/kg)		Pb total*** (mg/kg)	
	Prom.	DPR*(%)	Prom.	DPR*(%)	Prom.	DPR*(%)	Prom.	DPR*(%)
1	7.29	0.00	0.24	2.54	530.4	2.24	283.2	0.03
2	6.45	0.16	0.22	0.23	260.3	1.34	113.9	0.46
3	7.03	0.07	0.33	4.26	272.9	1.27	65.3	2.29
4	5.54	0.05	0.17	1.94	21.8	1.33	30.4	2.22
5	6.38	0.00	0.21	2.73	17.2	3.20	25.9	0.79
6	6.75	0.00	0.20	-3.37	19.1	1.21	27.7	0.22
7	7.00	0.00	0.16	-0.96	12.9	0.09	10.3	3.59
8	7.11	0.11	0.20	-2.32	19.6	0.77	43.7	-0.33
9	7.64	-0.03	0.63	-0.12	12.5	4.24	140.5	0.88
10	7.64	-0.23	0.43	-0.82	12.4	0.74	56.4	0.74
11	7.11	0.11	0.35	-1.93	20.6	2.16	46.0	0.15
12	7.26	0.00	0.33	1.52	21.1	6.16	22.9	5.02
13	7.73	0.13	0.34	1.79	51.3	0.60	107.8	0.45
14	7.36	-0.20	0.38	0.07	127.7	0.78	110.1	0.35
15	7.42	0.13	0.31	0.08	527.0	1.18	122.1	1.15
16	7.31	-0.05	0.58	-0.96	623.5	0.95	366.0	0.46
17	7.60	0.13	0.34	-2.80	439.5	8.65	174.0	1.15
18	7.55	-0.13	0.42	-0.42	75.9	0.66	42.3	9.97
19	7.48	0.03	0.37	-5.07	1079.4	0.45	1555.7	0.07
20	7.27	0.04	0.26	0.48	2346.3	1.40	435.1	0.36
21	7.35	-0.05	0.38	1.38	1725.8	3.28	337.1	0.93
22	7.04	0.04	0.23	-0.77	1120.5	4.17	282.5	0.56
22	7.04	0.04	0.23	-0.77	1120.5	4.17	282.5	0.56
23	6.82	0.01	0.34	-1.85	286.2	0.05	151.8	0.24
24	6.86	-0.05	0.42	0.65	208.0	7.82	68.7	0.46
25	7.20	0.07	0.28	0.00	88.5	0.68	32.8	0.29
26	7.13	0.08	0.19	2.44	104.0	0.09	35.7	0.07
27	6.97	-0.02	0.24	1.54	494.4	0.07	134.6	0.25
28	7.22	0.02	0.38	0.98	1101.3	0.19	215.2	1.09
29	7.21	0.05	0.37	-0.94	732.6	0.07	134.4	0.38
30	6.82	0.03	0.34	-2.09	1443.1	0.01	147.2	2.17
31	6.25	0.04	0.45	-2.39	2328.2	0.05	97.2	0.97
32	6.03	0.08	0.66	0.76	2024.5	0.03	206.6	1.42
33	7.27	-0.02	0.35	2.75	3321.9	0.08	294.2	0.44

\* DPR: significa diferencia porcentual relativa, es decir, la diferencia en % de las repeticiones entre el promedio; \*\* CE: Conductividad eléctrica; \*\*\* total se refiere aquí al As y Pb extraíbles con HCl-HNO<sub>3</sub>

En los perfiles del suelo, el pH aumenta ligeramente con la profundidad alcanzando valores alrededor de 8, a excepción de los pozos 15E y 15I, localizados cerca del límite norte de la presa (profundidad de 10 y 14 cm, respectivamente) cuyo pH en el horizonte inferior alcanza un valor de 6.8 y el pozo 3I (al sur de la presa), que disminuye ligeramente de 7.9 a 7.6 (Tabla B en el Apéndice de Resultados).

La conductividad eléctrica (CE) promedio en los suelos superficiales es de  $0.53 \pm 0.20$  mS/cm, con un intervalo de 0.03 a 18.52 mS/cm. En el área en dirección de los vientos dominantes (SO-NE) la CE fluctuó entre 0.78 y 1.63 mS/cm, que son valores altos, aunque las mayores conductividades se registraron en los suelos cercanos a la orilla NO de la presa (1.14-18.52 mS/cm) en donde se formó un humedal con agua de filtraciones de los jales. Este aumento en la CE se relaciona con el contenido de sales solubles en los jales, que se dispersan por viento o por filtraciones (Fig. 3-2; ver también Tabla C en el Apéndice de Resultados).

En los suelos superficiales (1.5-11.5 cm) el intervalo de CE es de 0.16 a 0.66 mS/cm, que refleja poca variabilidad entre los suelos a esta profundidad (Tabla 3-3). En general, en los perfiles de suelo se observa poca variabilidad de la CE con la profundidad. El intervalo es de 0.05 a 0.89 mS/cm; sin considerar el perfil 15-I ya que éste presenta valores atípicos muy altos de 2.24 (0-1.5 cm) y 1.60 mS/cm (2-14 cm). Este pozo se localiza aproximadamente a 100 m al norte de la presa, donde la humedad persiste durante todo el año, pues recibe las filtraciones de la presa, lo que favorece el arrastre y disolución de las sales presentes en los jales (Fig. 2-2; ver Tabla C en el Apéndice de Resultados).

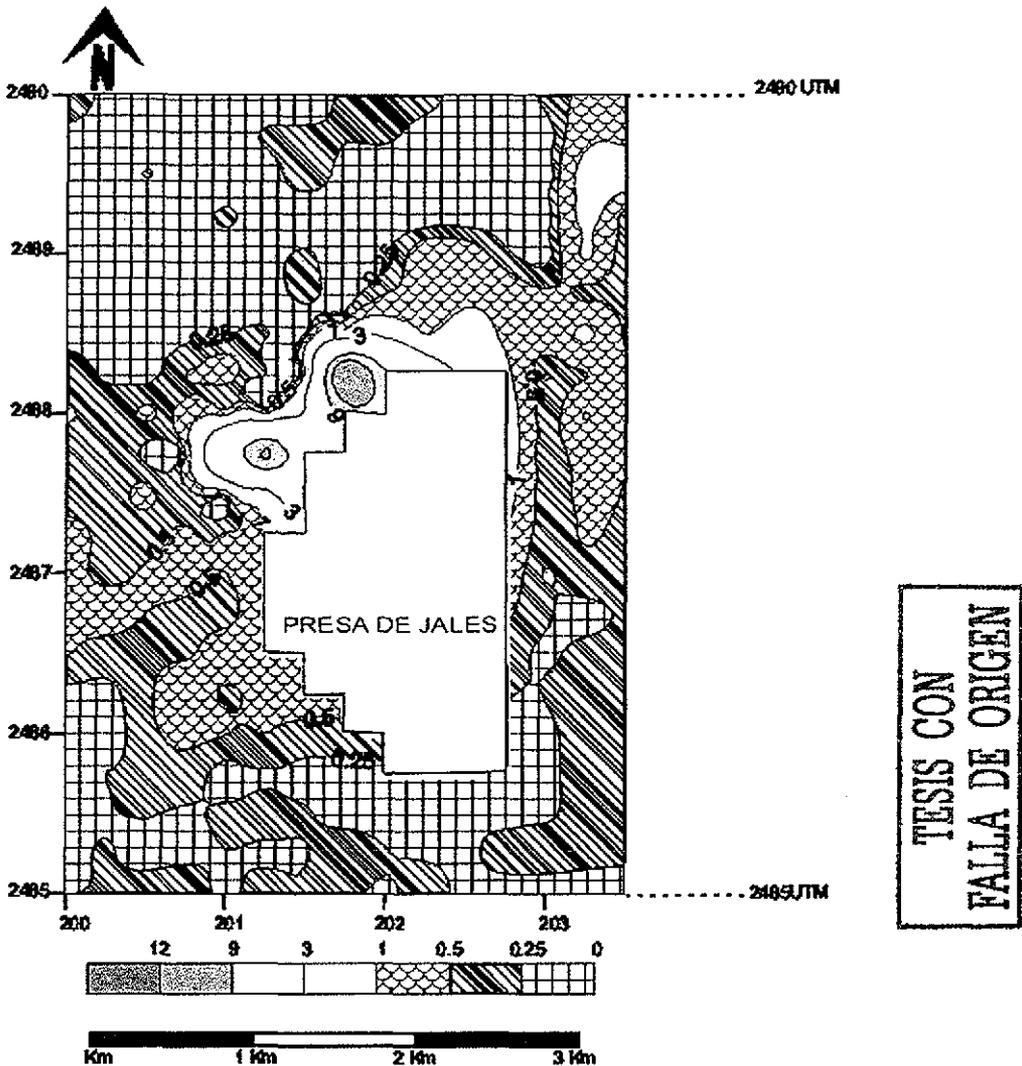


Fig. 3-2. Conductividad eléctrica (mS/cm) en suelos superficiales

El valor promedio del %C en suelos superficiales es de  $5.3 \pm 0.4$  (Tabla D en el Apéndice de Resultados); en los perfiles no se observa una tendencia de aumento o disminución con la profundidad de este parámetro, mientras que el % de arcilla, la capacidad de intercambio catiónico (CIC) y las bases intercambiables aumentan con la profundidad en todos los perfiles (Tabla B en el Apéndice de Resultados)

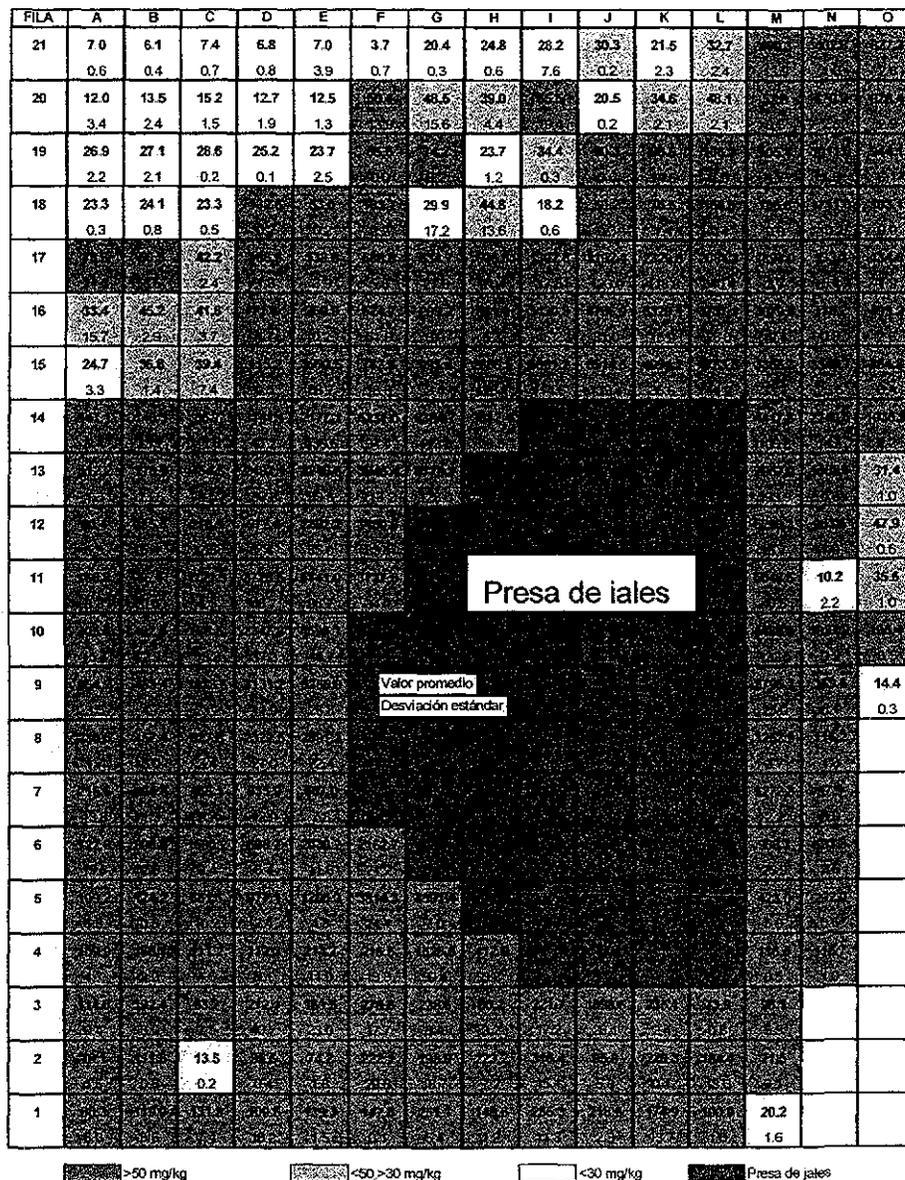
### 3.2 Concentración de arsénico y plomo en suelos superficiales y en perfiles

En las muestras de suelos superficiales (0-15 cm, n=240) las concentraciones de  $As_{total}$  varían de 6.1 a 7,957.0 mg/kg y las de  $Pb_{total}$  de <22.0 a 1,060.8 mg/kg. En las Tablas 3-4 y 3-5 los datos se encuentran registrados siguiendo el diseño de la rejilla de muestreo, se observa que las mayores concentraciones corresponden a suelos ubicados en los alrededores de la presa, especialmente en la zona norte; así como en suelos localizados a lo largo de la dirección de los vientos dominantes<sup>15</sup> (SO-NE). Con estos datos se formó la base de datos georreferenciada que se utilizó para la elaboración de los mapas de isolíneas.

En la fila superior y en la columna derecha de estas tablas se encuentran los puntos de referencia (de A a O y de 1 a 21) que se usaron para construir la cuadrícula de la rejilla de muestreo. La concentración que se observa en cada cuadro de las Tablas 3-4 y 3-5 corresponde al punto de intersección de las líneas en la rejilla de muestreo (Fig. 2-3). Las tablas se presentan de esta manera para que se relacione visualmente el valor de la concentración con su ubicación dentro del área de estudio.

<sup>15</sup> Ver en el apartado de Materiales y métodos, sección 2.2.1 la determinación de la dirección predominante de los vientos.

Tabla. 3-4. Concentraciones promedio de  $As_{total}$  (mg/kg) en suelos superficiales (0-1.5 cm) del área de estudio



**Tabla 3-5. Concentraciones promedio de Pb<sub>total</sub> (mg/kg) en suelos superficiales (0-1.5 cm) del área de estudio**

Fila	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O
21	>22.0	>22.0	<22.0	<22.0	<22.0	<22.0	41.6	86.5	87.4	75.9	31.7	25.5	135.6	52.8	233.7
							0.51	0.24	0.12	0.02	0.45	0.20	0.50	3.55	2.33
20	23.4	26.7	31.1	24.5	25.5	98.8	94.0	67.2	100.6	33.8	32.7	45.0	36.0	104.7	242.8
	7.36	3.39	5.17	4.84	2.97	5.04	11.90	0.92	1.90	0.03	0.63	0.42	1.52	5.79	4.84
19	22.2	19.5	24.4	19.7	18.5	43.3	75.8	31.7	26.1	32.7	32.9	30.8	28.0	166.7	342.4
	0.01	0.47	0.47	0.02	1.44	5.15	2.62	0.42	0.32	2.23	2.80	0.00	0.64	14.66	13.23
18	24.4	28.2	32.2	133.3	63.7	136.8	74.4	86.5	74.7	86.0	88.0	123.8	103.0	270.9	<22.0
	0.61	0.80	2.38	2.95	2.96	10.01	1.76	1.74	0.77	0.53	0.30	1.18	8.02	5.79	
17	78.8	110.4	106.8	187.5	180.6	265.8	274.4	213.2	447.4		460.4	422.4	444.2	81.9	<22.0
	46.82	0.05	1.09	9.66	1.42	1.45	1.28	4.07	0.55		0.72	4.85	3.98	7.44	
16	26.7	26.0	33.1	32.4	125.3	109.6	148.8	126.8					539.1	36.3	89.7
	0.02	1.33	1.40	2.75	2.51	5.97	7.14	3.07					6.14	0.83	4.84
15	67.1	71.3	78.3	106.8	289.9	312.9	298.3							357.0	266.7
	5.68	8.24	8.43	5.79	3.32	2.56	11.59							6.79	6.46
14	45.5	54.6	37.2	283.3	470.4			485.8						266.1	280.1
	0.01	1.43	1.81	8.24	6.23			0.00						3.77	19.85
13	58.9	85.3	180.5	453.4	577.2	453.7								206.8	235.3
	8.99	7.08	0.67	1.49	11.32	11.42								22.33	22.81
12	44.6	89.7	58.7	162.8	213.2	412.5								454.2	146.4
	1.80	3.68	5.26	11.58	26.50									1.24	3.31
11	>22.0	121.2	313.0	579.9	423.2	487.2								462.9	170.1
	0.50	0.20	2.23	3.81	8.16									1.52	13.24
10	179.7	177.5	165.1	315.9	429.7									548.2	270.1
	2.86	7.41	0.22	9.77										4.77	2.46
9	202.2	177.1	261.1	368.1	411.9									324.3	71.3
	0.66	5.58	23.86	6.66	54.30									3.56	4.96
8	99.6	208.3	235.7	330.1	544.5									440.2	22.8
	3.18	9.51	6.51	22.14	20.39									3.49	7.44
7	63.3	117.6	109.7	148.0	182.8									335.3	<22.0
	13.00	1.72	11.02	0.07	8.19									24.94	
6	77.2	88.0	336.3	314.0	282.1	228.4								299.1	157.8
	12.18	14.06	4.77	0.57	15.06	17.78								21.32	23.98
5	72.4	336.7	223.4	235.0	258.0	327.6	347.4							231.0	199.6
	11.10	40.68	3.70	10.48	9.96	12.27	23.83							3.82	18.20
4	59.2	125.3	80.0	277.8	436.4	413.9								390.3	207.6
	0.00	3.70	11.10	8.75	3.38	6.76	23.15	6.30						8.15	12.40
3	165.6	252.7	204.4	228.3	280.3	468.6	354.9	111.7	251.0	305.2	493.2	212.7	145.1		
	3.63	0.75	3.96	24.70	7.27	7.10	1.60	0.99	1.06	0.52	8.92	3.14	12.67		
2	240.3	453.1	60.0	242.3	298.0	435.1	541.0							349.4	
	1.06	2.32	0.43	4.36	0.69	10.06	8.57							5.92	
1	230.0	485.6	545.3	214.5	404.2	586.4								118.6	
	2.97	6.31	5.76	1.10	6.13	2.38								3.64	

**TESIS CON FALLA DE ORIGEN**

Presa de iales

Valor promedio  
Desviación estándar

  >600 mg/kg    
   <600. >150 mg/kg    
   <150 mg/kg    
   Presa de iales

Al igual que en los suelos de 0-1.5 de profundidad, las mayores concentraciones de  $As_{total}$  y  $Pb_{total}$  en los suelos superficiales de 1.5-11.5 cm de profundidad se observan en las cercanías de la presa (Tabla 3-3, Fig. 2-3). En el norte del área de estudio, en suelos cercanos a la presa, se encontró un coeficiente de correlación As con Pb de 0.94, posiblemente relacionado con la acumulación constante de polvos de la presa después de 15 años de operación.

En los perfiles se observó que en la mayoría de los suelos, el As y el Pb se concentran en la superficie. Las diferencias entre el horizonte superficial y el subyacente de los pozos muestreados en las proximidades de la presa, son estadísticamente significativas (95% de confianza) (Tabla 3-6, Figs. 2-3 y 3-3), lo que conforma una evidencia directa de la baja movilidad de As y Pb e indirecta de la presencia de minerales poco solubles de estos elementos en los jales, así como de que no han reaccionado en los suelos, de una manera significativa, para formar especies solubles. Lo anterior es muy evidente en los pozos 15E y 15I.

La excepción a este comportamiento corresponde a la zona al N y NO colindante con la presa, donde se acumulan filtraciones, por lo que hay humedad constante y se observa, aunque en forma aislada, un pH ácido. En este sitio la concentración de  $As_{total}$  aumenta con respecto al  $Pb_{total}$  (1.5-11.5 cm) y, -como ya se comentó-, los valores de CE son los más altos (Figs. 2-3, 3-2 y 3-3). Posiblemente esté ocurriendo en la presa, o en los suelos, la oxidación de los minerales sulfurados ricos en As ya que basta con que haya humedad y oxígeno, para que los minerales, como la arsenopirita y otros compuestos de As se transformen en minerales secundarios sólidos solubles o que forman coloides posibles de transportarse a horizontes inferiores (Sadiq, 1997).

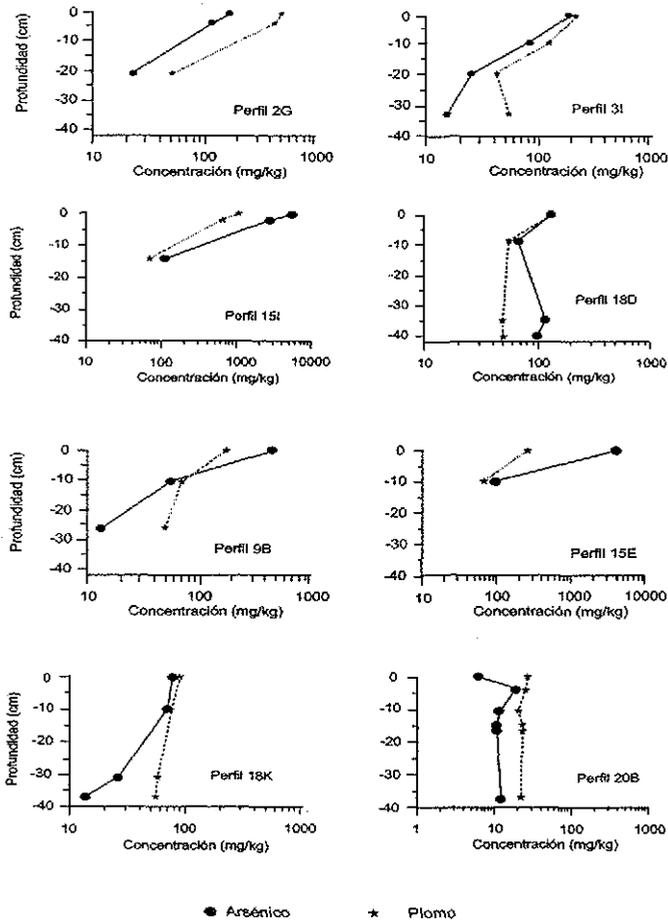
Sin embargo, pueden suceder otros fenómenos relacionados con la liberación o retención de As, como por ejemplo, la desorción de minerales amorfos y su transporte por agua en forma preferente a los minerales de plomo, los cuales a pH neutro son poco solubles.

En resumen, la baja movilidad en los suelos de As y Pb totales que, se observa en general, en la mayor parte del área de estudio se puede explicar por: a) los niveles de precipitación son muy bajos (510 mm/año); b) el As y el Pb están como minerales primarios o secundarios poco solubles a  $pH \cong 7$ ; y c) se encuentran sorbidos. Donde se observa mayor movilidad, es en donde las condiciones de humedad permiten una interacción con el suelo.

Tabla 3-6. Concentración promedio de  $As_{total}$  y  $Pb_{total}$  (mg/kg) en perfiles de suelos

Perfiles (prof. cm)	$As_{total}$ (mg/kg)		$Pb_{total}$ (mg/kg)	
<b>2G</b>				
0-1.5	198.8	± 13.5	541.0	± 6.2
0-4	116.5	± 0.3	434.0	± 22.3
4-21	22.6	± 0.4	51.9	± 51.9
<b>3I</b>				
0-1.5	221.7	± 12.4	251.0	± 0.8
0-10	83.2	± 1.7	126.1	± 0.8
10-20	24.8	± 1.0	42.2	± 3.8
20-33	15.4	± 0.1	54.2	± 3.1
<b>9B</b>				
0-1.5	453.4	± 3.4	177.1	± 4.0
0-10	54.5	± 1.1	68.4	± 4.1
10-25	13.1	± 0.6	48.2	± 3.9
<b>15E</b>				
0-1.5	3993.5	± 279.3	259.9	± 2.4
0-10	92.0	± 0.2	65.5	± 0.9
<b>15I</b>				
0-1.5	5601.2	± 82.7	1060.8	± 9.1
0-2	2768.4	± 14.1	638.3	± 2.2
2-14	110.8	± 2.9	67.3	± 0.5
<b>18D</b>				
0-1.5	132.5	± 0.1	133.3	± 2.1
0-9	67.4	± 0.6	55.1	± 0.0
9-40	116.0	± 1.4	48.2	± 2.4
40	97.6	± 1.4	48.2	± 0.0
<b>18K</b>				
0-1.5	75.5	± 1.0	88.0	± 0.2
0-10	68.7	± 0.1	72.5	± 7.3
10-31	26.0	± 0.7	56.8	± 2.4
31-37	13.6	± 0.2	55.1	± 0.0
<b>20B</b>				
0-1.5	6.1	± 0.3	26.7	± 2.5
0-6	18.1	± 0.7	24.0	± 1.5
6-10.5	11.2	± 0.3	19.8	± 1.5
10.5-15	10.4	± 0.0	22.1	± 1.2
15-16.5	10.6	± 0.6	23.0	± 0.0
16.5-38	11.8	± 0.1	27.1	± 0.0

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



**Fig. 3-3. Concentración promedio de  $As_{total}$  y  $Pb_{total}$  (mg/kg) en perfiles de suelos**

### 3.3 Evaluación del área afectada por polvos de jales

Para determinar si los suelos están afectados por  $As_{total}$  y  $Pb_{total}$  se consideraron: a) análisis geostatístico; b) comparación con valores de referencia de la zona y c) comparación con valores de referencia internacionales. Posteriormente se analizaron las relaciones  $As/Pb$  y la diferencia de  $Pb - As$ , para delimitar el área afectada.

3.3.1 Evaluación de la dispersión de los jales con base en los mapas de isolíneas de concentración

La dirección SO a NE (vientos dominantes) conforma la vía de dispersión de polvos con mayor potencial de afectación para los suelos de la localidad, lo cual se observa directamente en las tablas 3-4 y 3-5, en las que el área localizada al norte de la presa presenta los valores más altos. Esta dirección preferencial de los vientos y la intensidad de la afectación se confirma con los resultados de los mapas de isolíneas de concentración, producto de un análisis geoestadístico (ver apéndice de métodos, Sección III) la construcción de los mapas de isolíneas). Los mapas se construyeron con base en el logaritmo natural de los valores de concentración de  $As_{total}$  y  $Pb_{total}$  (Figs. 3-4 y 3-5) y es en el área N y NE en donde se muestran las menores distancias entre las isolíneas de concentración que en otras orientaciones

$Ln As (mg/kg)$

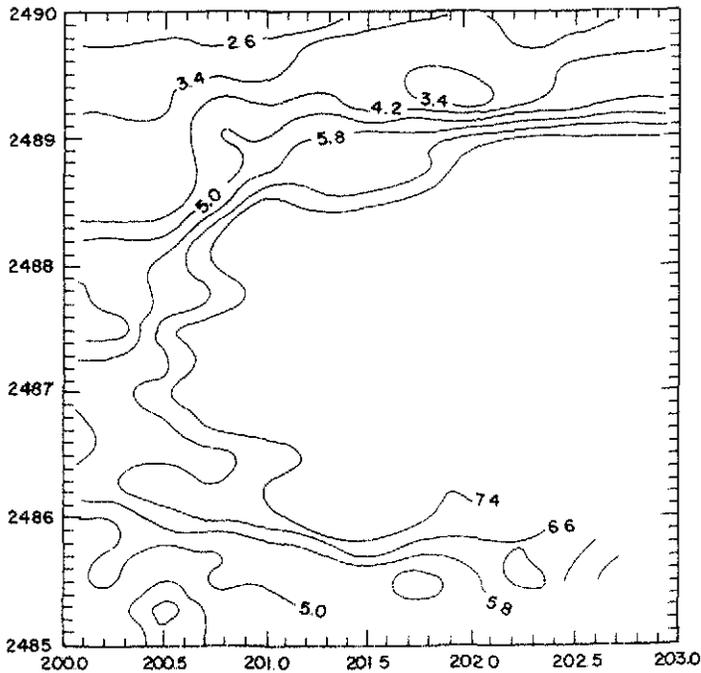
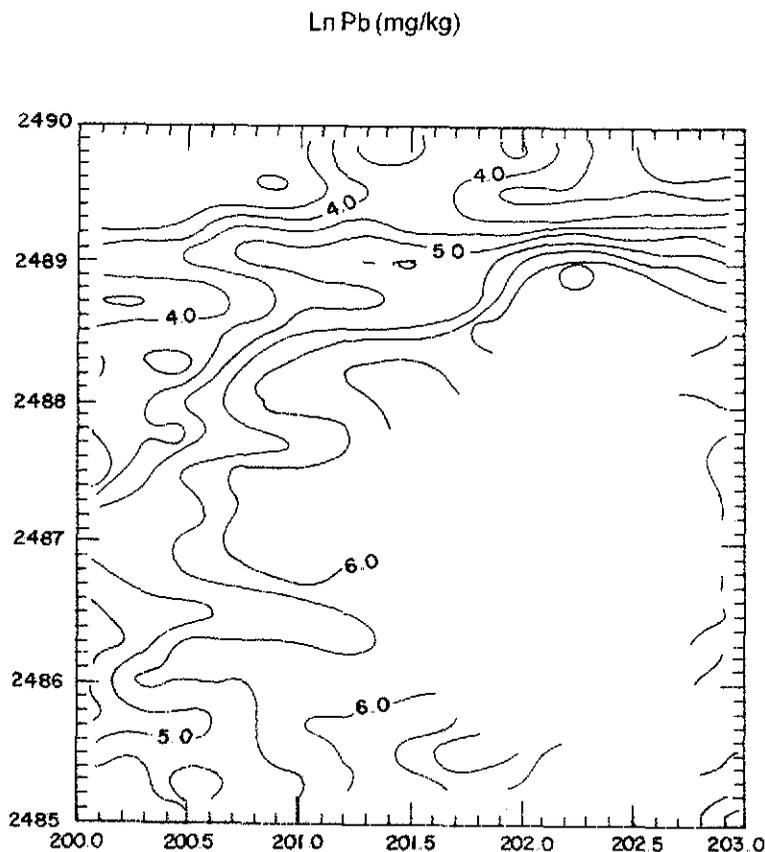


Fig. 3-4. Isolíneas de concentración del  $ln$  de  $As_{total}$



**Fig. 3-5. Isolíneas de concentración del Ln de  $Pb_{total}$**

A través del análisis geoestadístico (ver apéndice de métodos III: Análisis Geoestadístico) se identificó una ruta alterna de dispersión de As y Pb, que sigue la dirección E-O. El área evaluada colinda con el poblado situado a 1 km al SO de la presa de jales, medido a partir del punto más cercano hasta los límites del área urbana. La distancia entre las isolíneas en la dirección E-O, indica que la magnitud de la afectación en esta dirección es de menor intensidad, pero de mayor extensión que la dirección SO a NE. El área afectada rebasa incluso los límites del área de muestreo.

### 3.3.2 Evaluación de la afectación con base en valores de referencia del área

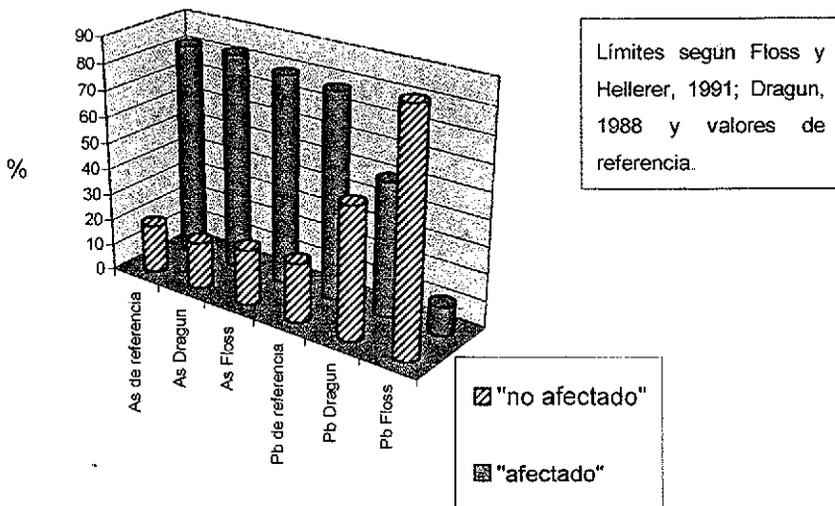
Como los suelos de la región contienen naturalmente al As y al Pb, ya que se forman a partir de materiales similares a los de la mina, se determinó establecer valores de referencia,

considerando las concentraciones de los suelos no afectados o menos afectados. Se consideró el promedio de los valores de As y Pb totales en la zona NO, que es la que presenta las menores concentraciones. Los límites de la zona se definieron con base en los criterios de zonificación de la sección 3.3.4. La concentración promedio en los suelos superficiales de la zona NO del área de estudio es de  $44 \pm 10.2$  mg/kg de  $As_{total}$  y de  $60.0 \pm 11.1$  mg/kg de  $Pb_{total}$ . Al comparar las concentraciones del total de suelos superficiales analizados con los valores promedio de referencia, se observa que el 82% y el 78 % de las muestras rebasan los valores de As y Pb, respectivamente (Fig. 3-6)

### 3.3.3 Evaluación de la afectación con base en estándares internacionales

Complementariamente se evaluaron los suelos con base en estándares internacionales, ya que hasta la fecha no se cuenta con uno nacional. Como un ejemplo, se seleccionaron los valores límites utilizados para restaurar suelos en Alemania ( $As > 50$  mg/kg y  $Pb > 600$  mg/kg) (Floss y Hellerer, 1991) y también se consideraron los valores superiores reportados como típicos para suelos por Dragun (1988) (40 mg/kg para el As y 200 mg/kg para Pb).

Respecto a los límites reportados por Floss y Hellerer (1991), el 80.3 % supera los valores límites de As y el 10.9% los de Pb. Considerando los límites superiores de valores típicos en suelos (Dragun, 1988), 83% y 50% rebasan estos valores, respectivamente (Fig. 3-6).



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### 3.3.4 Zonificación con base en la relación $As/Pb$ y $As$ menos $Pb$

Con las concentraciones de  $As_{total}$  y  $Pb_{total}$  en jales y en suelos superficiales se calculó la relación  $As/Pb$ . En los jales, se obtuvo un intervalo de valores  $As/Pb$  de 1.5 a 8 (Tabla 3-1 y 3-2). Esta relación se comparó con la obtenida para los suelos superficiales (0-1.5 cm) (Tabla E en el Apéndice de Resultados). También se encontraron índices mayores que los caracterizados para los jales, lo cual, puede deberse a fenómenos de acumulación de  $As$  con respecto al  $Pb$ .

Los índices obtenidos en los suelos superficiales se agruparon en clases: 0.1 a 1.5, 1.5 a 4, 4 a 8 y 8 a 15. La clase 0.1 a 1.5 comprende a los suelos con concentraciones totales que van desde  $As < Pb$ ,  $As \approx Pb$  o hasta 1.5 veces más  $As$  que  $Pb$ . Las dos clases siguientes, agrupan a los suelos con una relación semejante a la obtenida para los jales y la clase de 8 a 15, a los suelos con una concentración de  $As$  mucho mayor que la encontrada en los jales. En la figura 3-7 se ubican espacialmente estos índices.

La afectación de los suelos que presentan un índice  $As/Pb$  similar a la de los jales (de 1.5/1 a 8/1) evidencia el transporte atmosférico de polvo de la presa, es decir, los polvos de jales no han sufrido un cambio químico significativo. Estos suelos se localizan en los alrededores de la presa de jales y hacia el poniente, como se puede ver en la Fig. 3-7.

Los valores de  $As/Pb$  mayores que el valor máximo encontrado en jales corresponden a sitios donde la concentración de  $As$  es mayor que la de  $Pb$  (hasta una relación 15/1). Específicamente estos valores corresponden a los suelos húmedos donde fenómenos químicos, físicos y de superficie, han generado que el  $As_{total} \gg Pb_{total}$  (Fig. 3-7)

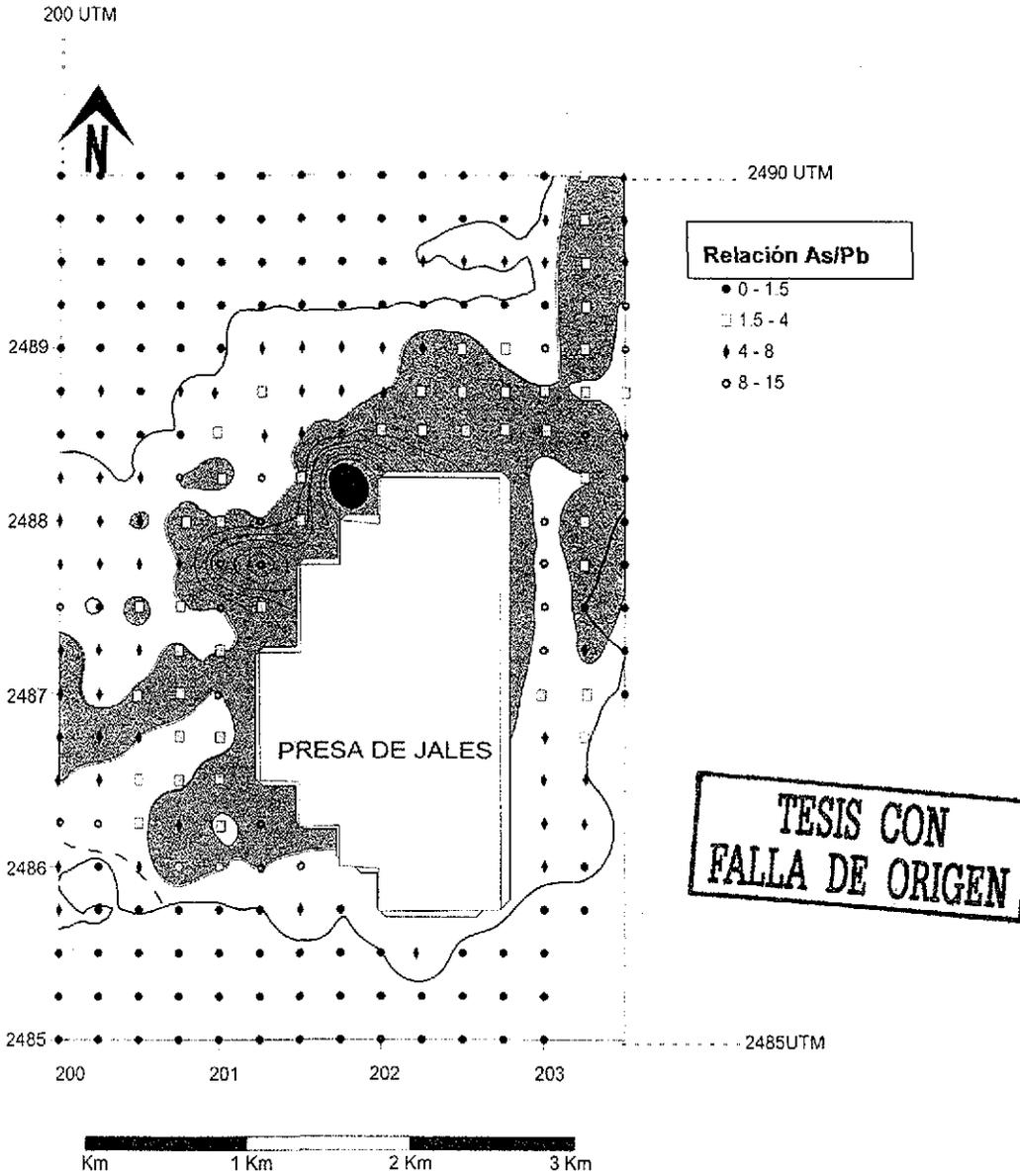


Fig. 3-7. Relación As/Pb totales y conductividad eléctrica en el área de estudio

---

Los valores de  $As/Pb \leq 1.5$  indican que las muestras contienen Pb en concentraciones similares o mayores a las de As; así, los suelos que pertenecen a este grupo están en el área NO y S del área de estudio (Fig. 3-7). Sin embargo, al utilizar la relación Pb-As (diferencia de la concentración de As con respecto a la de Pb) (Tabla E en el Apéndice de Resultados), se observa que los suelos del S del área de estudio contienen concentraciones  $Pb > As$ . A diferencia de lo anterior, los suelos del NO contienen concentraciones de  $Pb \approx As$ ; estos suelos corresponden al área no afectada o menos afectada por los jales, como se determinó a través del análisis geostatístico, en donde los niveles naturales de Pb y As son bajos, si se les compara con el resto del área de estudio. En la Figura 3-8 se identifican tres áreas con base en esta relación:

Área I.- que se observa en la parte NO; corresponde a los sitios no afectados o poco afectados. Área II.- que es la zona afectada<sup>16</sup> posiblemente por fuentes diferentes a la presa de jales; está situada entre la presa y el poblado. Área III.- en la parte central del área de estudio y los alrededores de la presa, comprende a los suelos contaminados con jales de la presa

---

<sup>16</sup> Se dice afectada, ya que las concentraciones totales son mucho mayores que los valores de referencia.

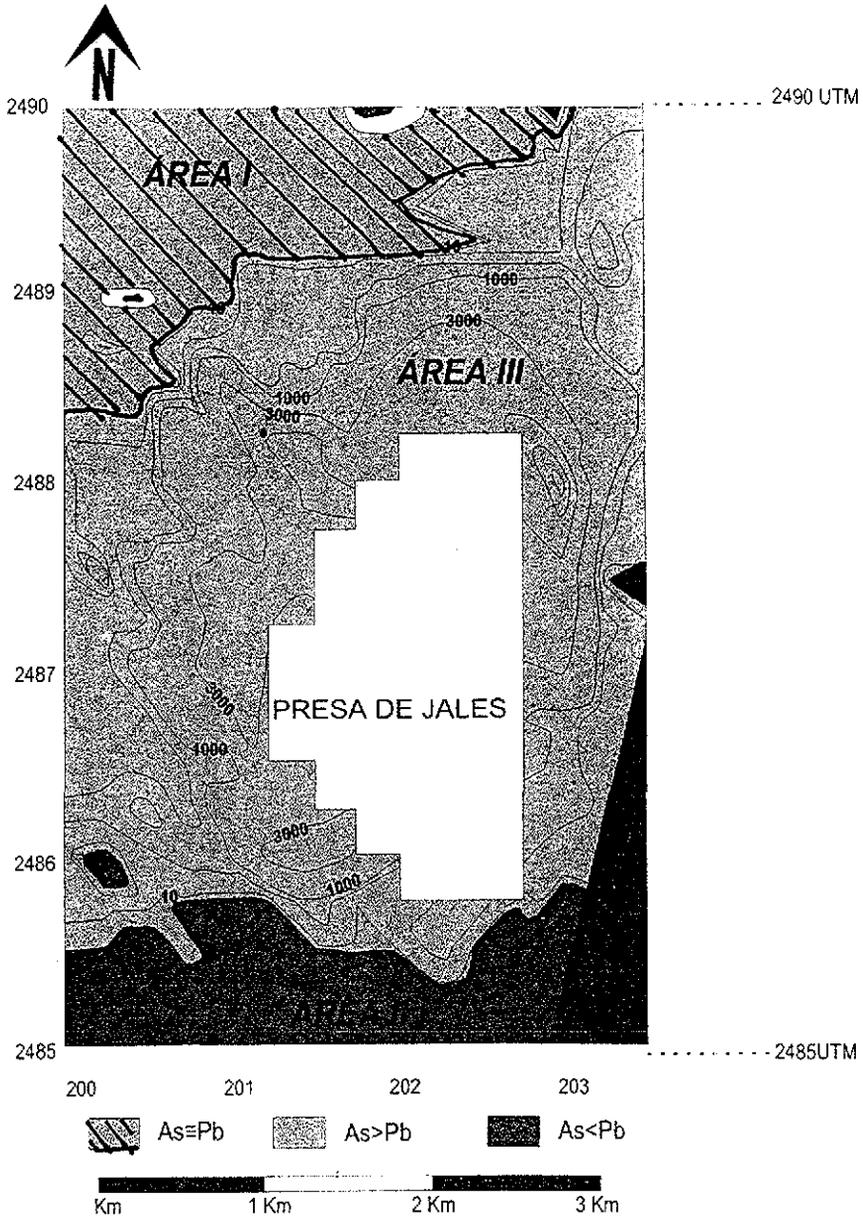


Fig. 3-8. Zonificación del área de estudio con base en la distribución As menos Pb

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### 3.4 *As soluble en agua: total, As (III) y As (V)*

A partir de los resultados de las concentraciones de As y Pb totales (extracción con HCl-HNO<sub>3</sub>), especialmente del As, detectadas en suelos superficiales en los alrededores de la presa, se puede afirmar que existe un transporte de polvos de desechos mineros a los suelos aledaños. Sin embargo, las concentraciones totales de los elementos no permiten evaluar su efecto sobre la biota o sobre ciertas funciones del suelo. Pueden existir niveles muy elevados de As total, así como de otros elementos, pero su afectación al medio depende de la especie química de la que se trate, su solubilidad, de las características del suelo (incluyendo el componente biótico) y sus interacciones, así como de diversos factores ambientales que puedan potenciar o disminuir estas interacciones. En general, en el ambiente, los EPT están continuamente estableciendo un equilibrio entre la fase sólida y la solución del suelo o agua de poro; en un momento dado, cuando cambian las condiciones (como el potencial redox, el pH, transformaciones biológicas), las fracciones menos retenidas de la fase sólida puedan pasar a la fase líquida y formar parte de la fracción disponible (Sadiq, 1997).

Para evaluar la afectación a la salud del suelo, es necesario otro tipo de pruebas que pongan de manifiesto, entre otros factores, la disponibilidad del As, su forma química, ya que el As (III) es más soluble y tóxico que el As (V) (ver Secc. Toxicidad en el Marco Teórico). Por lo anterior, se determinó la concentración total soluble del As en muestras de suelos colectadas a diferentes distancias de la presa, así como su estado de oxidación.

En la práctica, se consideran como "solubles" a las concentraciones de un elemento que pasan por un filtro de 0.45  $\mu$ m, ya que aunque puede contener coloides, estos pueden transportarse a través de los poros del suelo o subsuelo (Sadiq, 1997).

No se encontraron concentraciones detectables de Pb, ni de Cd en los extractos analizados. Las concentraciones de As "soluble" en las muestras de suelo subsuperficiales (1.5-11.5 cm, n = 33) no se correlacionan de manera significativa con el As total (HCl-HNO<sub>3</sub>) ( $r=0.4$ ); lo cual, es una evidencia de que los suelos analizados han alcanzado el equilibrio.

Las concentraciones de As soluble en el área de estudio varían de 0.5 mg/kg, que es la concentración más pequeña de As soluble encontrada en el área y 3.3 mg/kg, que es la mayor; este intervalo corresponde a 0.05% al 5.58% del As total (HCl-HNO<sub>3</sub>) (Tabla 3-7, ver Fig 2-3 para localización de puntos de muestreo), lo cual coincide con otros estudios en zonas mineras. Por ejemplo en una mina de Montana se demostró que el As en los jales era 5 veces

menos disponible que el  $\text{Na}_2\text{HAsO}_4$  (Pascoe *et al.*, 1994). La baja disponibilidad se explica por la naturaleza poco soluble de las fases que llevan As (generalmente sulfuros) y los valores de pH y del potencial redox que pueden favorecer o no su disolución; así como por la presencia de compuestos que sorben aniones (amorfos), o como las arcillas y los carbonatos (Davis y Rosalen, 1996).

En las columnas de la izquierda de la tabla 3-7, se incluyen: los porcentajes del As soluble con respecto al total (extraíble con  $\text{HCl-HNO}_3$ ); los porcentajes del As (III) y As (V), con respecto a la suma de ambos. En las muestras colectadas en el área norte que colinda con la presa de Jales se encontraron concentraciones de As (III) que corresponden del 30 al 42% del As total y en el extremo poniente, en las muestras en donde se detectó As (III) se presentan concentraciones que corresponden del 10 al 28% de As total (la diferencia es As (V)). Las muestras en donde se encontró As (III), son las que presentan mayor concentración de As soluble que, en general, están en el área que presenta conductividades eléctricas mayores que 0.5 mS/cm. En el resto del área de estudio sólo se detectó la presencia de As (V) (Fig. 3-9).

En el suelo, las formas solubles pueden sufrir reacciones de oxidación, reducción y ser reabsorbidas posteriormente en otras superficies, características que determinan su transporte. En este estudio se determinaron las concentraciones de As soluble: total, As (III) y As (V).

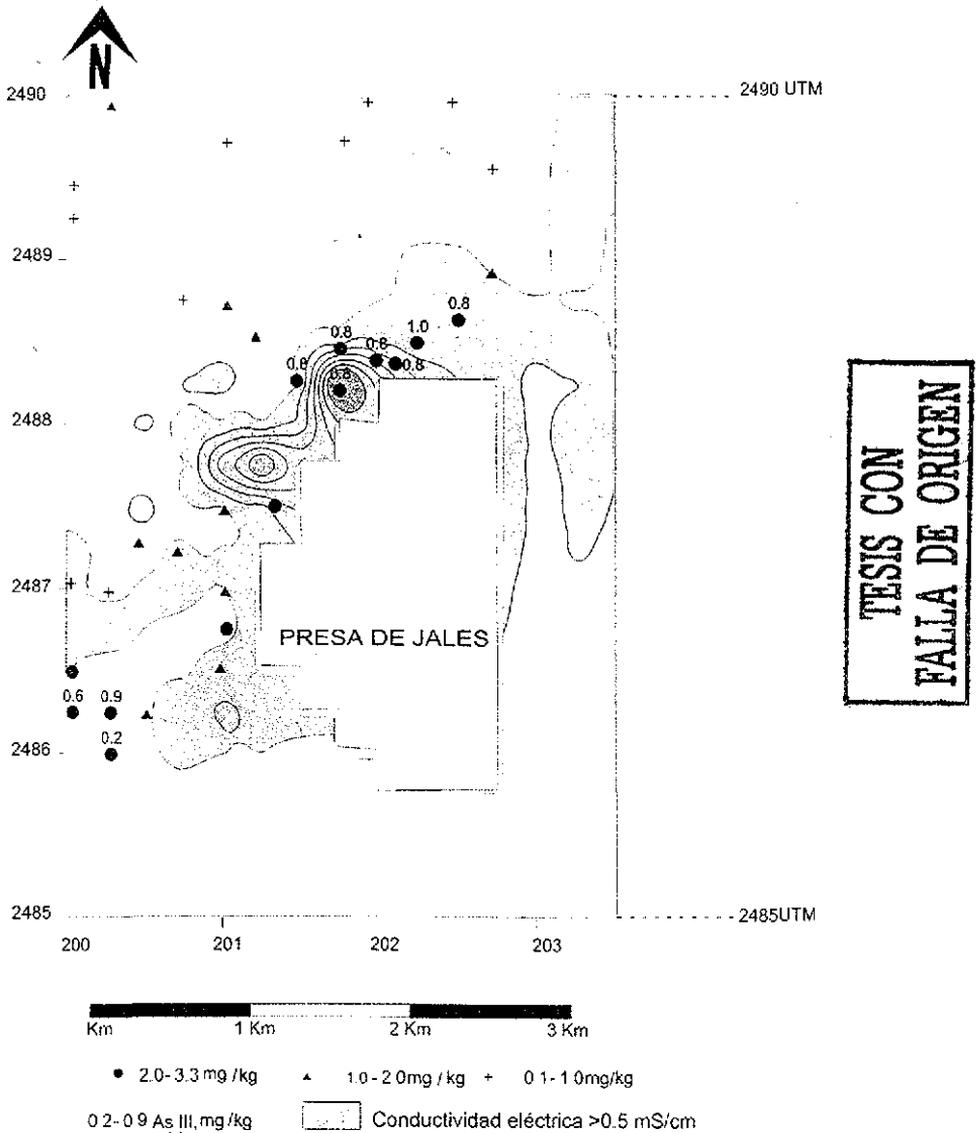
**NOTA:** En adelante, las concentraciones de As (total, As (V) y As (III)) que se presentan se refieren al As soluble, de otra manera se hará la aclaración que es extraíble con  $\text{HCl-HNO}_3$ .

En la mayoría de los suelos, las concentraciones de As total son semejantes a las de As(V) ya que es el estado de oxidación que prevalece. Las concentraciones de As (V) varían entre 0.4 y 2.3 mg/kg, lo que equivale al 58.4% y al 100% (aprox.) de la concentración As total (Tabla 3-7). Lo anterior se confirma por estudios que reportan que el As (V) (arsenato) es la forma predominante, soluble en agua, del arsénico en los "jales" mineros (Woolson, 1977). Un ambiente oxidante junto con la presencia de iones de hierro y  $\text{MnO}_2$ , en los jales favorecen la oxidación del As (III) a As (V).

Tabla 3-7. Concentraciones de As extraíble (HCl-HNO<sub>3</sub>) y As soluble (total, As (III) y As (V)) en muestras de suelo superficial (1.5-11.5 cm) del área de estudio

Muestra	As extraíble (HCl-HNO <sub>3</sub> )		As soluble						Porcentajes		
	(mg/kg)		As (III) (mg/kg)		As (V) (mg/kg)		As total (mg/kg)		% As soluble/	% As III/	% As (V)
	prom	DPR	Promedio	Desv. Est.	Promedio	Desv. Est.	Promedio	Desv. Est.	As extraíble/	As(III)+As(V)	As(III)+As(V)
1	530.36	2.24	0.76	0.02	1.74	0.07	2.71	0.04	0.51	30	70
2	260.27	-1.34	0.99	0.01	1.80	0.04	3.00	0.05	1.15	35	65
3	272.86	-1.27	0.79	0.03	1.20	0.03	2.20	0.05	0.81	40	60
4	21.80	1.33	---	---	1.14	0.02	1.18	0.04	5.39	---	100
5	17.25	-3.20	---	---	0.43	0.02	0.58	0.03	3.36	---	100
6	19.06	-1.21	---	---	0.44	0.04	0.56	0.01	2.96	---	100
7	12.91	-0.09	---	---	0.43	0.02	0.57	0.03	4.41	---	100
8	19.56	-0.77	---	---	0.48	0.01	0.54	0.02	2.78	---	100
9	12.45	-4.24	---	---	0.49	0.04	0.50	0.01	4.05	---	100
10	12.36	-0.74	---	---	0.52	0.02	0.57	0.01	4.63	---	100
11	20.57	-2.16	---	---	0.67	0.03	0.76	0.02	3.68	---	100
12	21.07	-6.16	---	---	1.04	0.04	1.18	0.03	5.58	---	100
13	51.27	0.60	---	---	0.85	0.06	0.89	0.04	1.73	---	100
14	127.67	0.78	---	---	1.20	0.04	1.36	0.04	1.06	---	100
15	527.03	-1.18	---	---	1.22	0.04	1.64	0.03	0.31	---	100
16	623.54	-0.95	0.78	0.00	1.49	0.06	2.48	0.07	0.40	34	66
17	439.52	8.65	0.76	0.02	1.59	0.07	2.68	0.06	0.61	32	68
18	75.92	-0.66	0.77	0.00	1.08	0.06	2.19	0.07	2.89	42	58
19	1079.41	0.45	0.81	0.01	1.63	0.08	3.05	0.10	0.28	33	67
20	2346.32	-1.40	---	---	1.46	0.17	2.41	0.07	0.10	---	100
21	1725.77	-3.28	---	---	1.18	0.16	1.29	0.05	0.07	---	100
22	1120.50	4.17	---	---	1.14	0.13	1.20	0.05	0.11	---	100
23	286.20	0.05	---	---	1.04	0.08	1.55	0.02	0.54	---	100
24	207.96	7.82	---	---	0.68	0.03	0.82	0.02	0.39	---	100
25	88.46	0.68	---	---	0.90	0.01	0.86	0.03	0.97	---	100
26	104.03	-0.09	---	---	1.92	0.13	2.53	0.03	2.43	---	100
27	494.41	-0.07	0.60	0.01	1.97	0.27	3.33	0.03	0.67	23	77
28	1101.31	-0.19	0.86	0.01	2.24	0.18	2.94	0.04	0.27	28	72
29	732.56	-0.07	0.25	0.00	2.28	0.12	2.60	0.07	0.35	10	90
30	1443.09	-0.01	---	---	0.84	0.06	1.15	0.04	0.08	---	100
31	2328.17	-0.05	---	---	1.64	0.22	1.97	0.03	0.08	---	100
32	2024.48	0.03	---	---	1.80	0.08	3.09	0.02	0.15	---	100
33	3321.85	-0.08	---	---	1.54	0.17	1.77	0.04	0.05	---	100

-- no detectable



**Fig. 3-9. Concentraciones promedio de As soluble: total y As (III) en el área de estudio**

Los círculos, triángulos y cruces representan las concentraciones de As soluble total. Prácticamente todo el As total corresponde a la especie química As (V), a excepción de los sitios que se muestran en la figura con un número, que representa la concentración de As (III) (mg/kg).

En la zonas húmedas del área de estudio que comprenden a los suelos colindantes con el límite norte de la presa y a los que están en el área de influencia de una corriente temporal, situada a 1.5 km al poniente de la presa (Fig. 3-9), se observó la mayor concentración de As total y la presencia de As (III)

En la cercanías de la presa, el As (III) constituye del 30 al 412% del total (Fig 3-9, n=7), mientras que en la zona al poniente de la presa, el As (III) constituye del 10 al 28 %, respectivamente, en las muestras en las que se detectó este estado de oxidación (n=3).

Las muestras que presentan As (III) son también las que contienen mayor concentración de As total (>2 mg/kg), ya que en este estado de oxidación y a pH cercano a la neutralidad el As (III) es más soluble; se ha reportado que en ambientes neutros o ácidos, el As (V) se sorbe fuertemente, mientras que el As (III) lo hace más débilmente (US Dep. Health & Human Services, 1998)

El aumento en la movilidad (mayor solubilidad) del As cuando hay condiciones reductoras, se atribuye, por lo general, a la reducción de Fe (III) a Fe (II) con la subsecuente liberación de As (V) y la reducción de As (V) a As (III) (Bowell, 1994; Gulens *et al.*, 1989; Masscheleyn *et al.*, 1991).

Aunque en el estudio no se determinó el potencial redox, la presencia de As (III) en zonas húmedas, es un indicador de que las condiciones son reductoras. Sin embargo, cabe considerar que el potencial redox es el resultado de todos los sistemas oxidantes y reductores que ocurren en el suelo y que, por lo tanto, este factor puede no estar correlacionado cuantitativamente con las concentraciones de As (III) y As (V) (Yan-Chu, 1994).

Se debe mencionar que en este estudio se utilizó agua desionizada para realizar las extracciones de As soluble. Roussel *et al.* (2000) mencionan que la interacción con el agua desionizada puede compararse con la del agua de lluvia o las aguas naturales que presenten bajos contenidos de especies disueltas; sin embargo, se puede llegar a la disolución de algunos metales. Este tipo de extracciones, por lo general, no representan condiciones reales, pero puede dar una idea sobre lo que está sucediendo en el sistema y proporcionar información sobre el comportamiento de algunos metales cuando se somete el suelo a un proceso de lixiviación alta, tal es el caso de los eventos de lluvias torrenciales, como suceden en la zona minera bajo estudio.

### **3.5 Actividad de las deshidrogenasas**

A grandes rasgos, el área de estudio se puede describir como un área con suelos someros (hasta 40 cm de profundidad), con una clase textural franco y franco-arenoso, clima de tipo seco, escasa vegetación, 510 mm de precipitación anual, suelos muy secos (humedad de 2%) a excepción de unas áreas al norte de la presa de jales, en donde se reúnen las filtraciones de la misma para ser conducidas hacia un humedal que se encuentra al NO, y de un arroyo en el poniente del área de estudio. Los suelos superficiales están oxidados, a excepción de las áreas húmedas en donde se reportó la presencia de As (III). Los suelos aledaños a la presa de jales están siendo afectados por los jales, que son transportados desde la presa principalmente por aire y son depositados en su superficie.

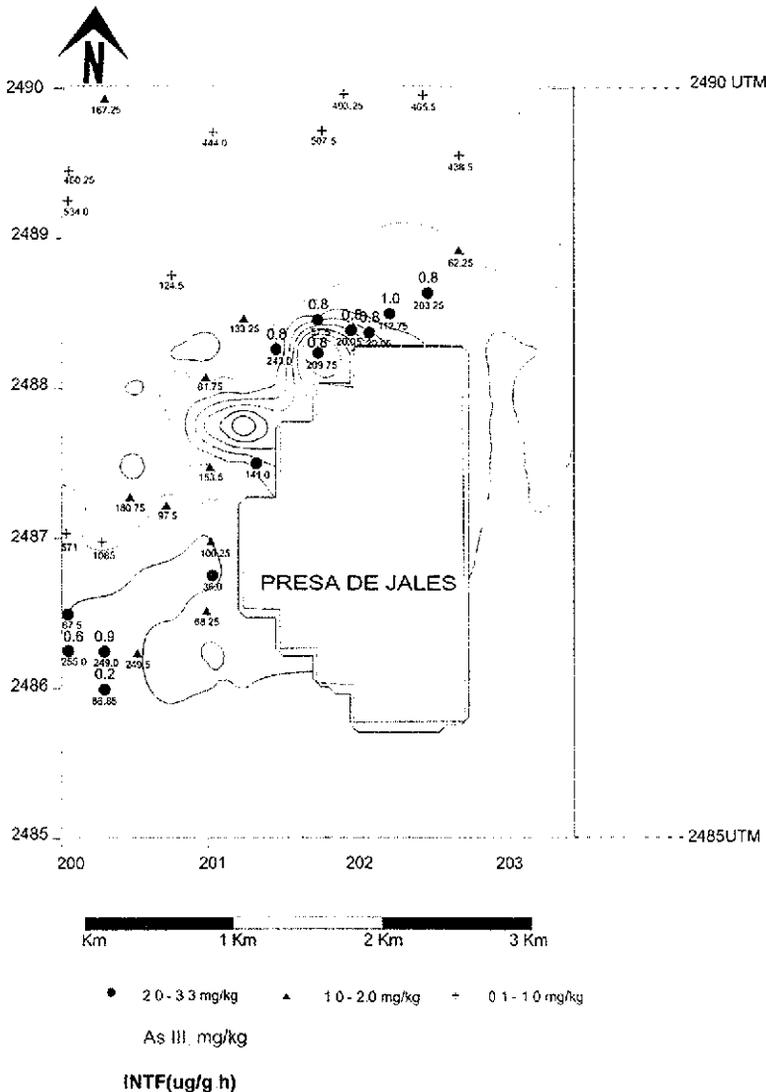
Dadas las características del área, se espera que las poblaciones microbianas en los suelos no sean abundantes. En los suelos de la zona de estudio se encontró que la actividad de las DHA disminuye al aumentar las concentraciones de As total y de As (V) (Tablas 3-8 y 3-9, Figs. 3-10 y 3-11). Estos resultados indican una disminución en la actividad de las DHA y, por lo tanto, una menor actividad microbiológica; sin embargo, la correlación entre el As extraíble (HCl-HNO<sub>3</sub>) y la actividad de las DHA fue de -0.4.

**Tabla 3-8. Actividad de las DHA (ug/g.h INTF) en muestras de suelo superficial en el área de estudio**

Muestra	Actividad DHA		As extraíble (HCl-HNO <sub>3</sub> ) (mg/kg)	As soluble		
	Promedio (ug/g.h INTF <sup>**</sup> )	%CV		As (III) (mg/kg)	As (V) (mg/kg)	As total (mg/kg)
1	70.46	4.83	530.36	0.76	1.74	2.71
2	112.75	11.38	260.27	0.99	1.80	3.00
3	203.20	9.19	272.86	0.79	1.20	2.20
4	65.29	11.35	21.80	—	1.14	1.18
5	438.46	7.55	17.25	—	0.43	0.58
6	465.62	7.55	19.06	—	0.44	0.56
7	493.23	5.67	12.91	—	0.43	0.57
8	507.58	13.20	19.56	—	0.48	0.54
9	460.35	11.02	12.45	—	0.49	0.50
10	533.97	8.24	12.36	—	0.52	0.57
11	444.50	5.34	20.57	—	0.67	0.76
12	167.36	14.77	21.07	—	1.04	1.18
13	124.43	19.13	51.27	—	0.85	0.89
14	81.71	24.46	127.67	—	1.20	1.36
15	133.20	10.37	527.03	—	1.22	1.64
16	242.94	8.96	623.54	0.78	1.49	2.48
17	209.84	7.48	439.52	0.76	1.59	2.68
18	57.38	9.69	75.92	0.77	1.08	2.19
19	70.54	9.98	1079.41	0.81	1.63	3.05
20	140.91	5.74	2346.32	—	1.46	2.41
21	153.51	14.49	1725.77	—	1.18	1.29
22	97.49	4.01	1120.50	—	1.14	1.20
23	180.87	8.15	286.20	—	1.04	1.55
24	271.24	9.22	207.96	—	0.68	0.82
25	142.77	7.10	88.46	—	0.90	0.86
26	67.39	6.66	104.03	—	1.92	2.53
27	252.96	2.71	494.41	0.60	1.97	3.33
28	249.09	8.35	1101.31	0.86	2.24	2.94
29	86.48	7.33	732.56	0.25	2.28	2.60
30	249.54	11.14	1443.09	—	0.84	1.15
31	68.27	2.14	2328.17	—	1.64	1.97
32	35.88	10.68	2024.48	—	1.80	3.09
33	100.30	9.26	3321.85	—	1.54	1.77

— no detectable

\*\*INTF iodonitritetrazolio formazán



**Fig. 3-10. Concentraciones de As soluble (total y As (III)) (mg/kg) y la actividad de las DHA (ug/g.h INTF) en el área de estudio**

Los círculos, triángulos y cruces representan las concentraciones de As soluble total. Prácticamente todo el As total corresponde a la especie química As (V), a excepción de los sitios que se muestran en la figura con un número encima del símbolo, que representa la concentración de As (III) (mg/kg). Los valores que se encuentran debajo de cada símbolo representan la actividad de las DHA (ug/g h)

Con los resultados obtenidos se calcularon los coeficientes de correlación (Pearson) considerando tres áreas: 1. toda el área de estudio; 2 el norte y 3 el poniente. En cada una de las tres áreas mencionadas se consideraron: A) todas las muestras, B) muestras que sólo presentaron concentraciones de As (V) y C) las que presentaron concentraciones tanto de As (V) como de As (III) Cada uno de estos grupos incluye la relación As (III)-actividad de la DHA, As (V)-actividad de la DHA y As total-actividad de la DHA (Tabla 3-9) .

**Tabla 3-9. Coeficientes de correlación (Pearson) concentración de As soluble (mg/kg) (Total, As (III) y As (V))-Actividad de las DHA (ug/g.h INTF) en muestras de la zona de estudio**

As-DHA	1. Toda el Área de estudio			2. Área Norte			3. Área Poniente		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
As (III)	-0.22		0.12	-0.51		-0.13	0.47		<b>0.90</b>
As (V)	<b>-0.69</b>	<b>-0.87</b>	0.16	<b>-0.82</b>	<b>-0.94</b>	-0.10	-0.31	<b>-0.88</b>	<b>-0.62</b>
Total	<b>-0.61</b>	<b>-0.74</b>	0.19	<b>-0.72</b>	<b>-0.88</b>	-0.29	-0.18	<b>-0.72</b>	<b>0.86</b>

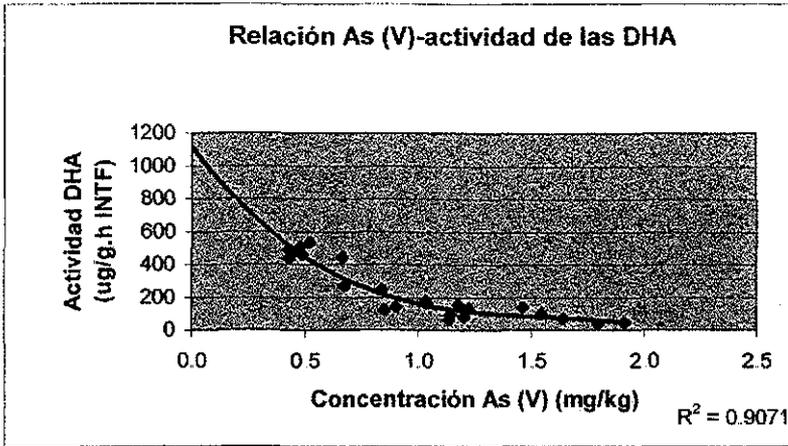
A: incluye todas las muestras del área

B: Incluye las muestras que contienen As (V) y no As (III)

C: muestras que contienen As(V) y As (III)

Los coeficientes de correlación calculados para las muestras de toda el área, muestran una relación inversa entre la concentración del As total y del As (V) (mg/kg) con la actividad de las DHA (ug/g.h INTF) (Tabla 3-9). En la tabla se observa que la correlación es mayor si se consideran solamente las muestras que no presentan concentraciones de As (III) (Tabla 3-9, Grupo 1, columna B). Por el contrario, la correlación entre la concentración de As y la actividad de las DHA en muestras en las que se detectó presencia de As (III) fue menor a 0.2 (Tabla 3-9, Grupo 1, columna C).

En la figura 3-11 se grafica la concentración de As (V) vs. actividad de las DHA. La gráfica incluye todas las muestras del área, con excepción de las que contenían concentraciones detectables de As (III). El coeficiente de correlación de la concentración As (V)-actividad de las DHA es de -0.87. La ecuación de tercer grado ( $r^2=0.91$ ) es la que mejor define el comportamiento de la curva ( $y = -239.31x^3 + 1130.7x^2 + 1848.9x + 1119.7$ ).



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

\*Incluye todas las muestras del área de estudio, a excepción de aquellas que presentaron concentraciones detectables de As (III).

**Fig. 3-11. Relación As (V)-actividad de las DHA en muestras colectadas en el área de estudio (suelo 1.5-11.5 cm)**

Se observa una correlación alta negativa en la relación concentración de As (V)-actividad de la DHA en el **norte** del área de estudio ( $r=-0.94$ ), así como en la relación de As total-actividad de las DHA ( $r=-0.88$ ). Estas correlaciones se calcularon sin considerar los suelos más cercanos al límite norte de la presa de jales, en donde se detectaron concentraciones de As (III) y las condiciones de humedad son mayores, lo que genera un ambiente reductor. Para los suelos de esta área húmeda, el coeficiente de correlación As (total, As (V) y As (III)-actividad de las DHA fue menor a 0.3.

En la zona **poniente**, se encontró también una correlación negativa de  $-0.88$  entre la concentración de As (V) y la actividad de la DHA ( $\mu\text{g/g h INTF}$ ). Al igual que en los otros casos, no se incluyeron las muestras con contenido de As (III). En contraste, el coeficiente de correlación As (III)-actividad de las DHA ( $\mu\text{g/g.h INTF}$ ) en muestras que contienen As (III) fue alto y positivo ( $r=0.90$ ) (Tabla 3-9).

A pesar de que la concentración de As soluble no es una medida de biodisponibilidad, puede considerarse como una fracción de As que no está retenida fuertemente en la fase sólida del suelo. Ya que el As es tóxico para la mayoría de los microorganismos del suelo, se esperaría

por lo general<sup>17</sup> que, a mayor concentración de As soluble, la actividad metabólica de los microorganismos, fuera menor (relación inversa). Esta relación se encontró en los suelos aerobios con As (V) (por ejemplo, en la Fig 3-11), pero no en aquellos con condiciones reductoras en que prevalece el As (III) (Tabla 3-9).

También se esperaba que el aumento de la concentración de As (III), que es una especie más tóxica que el As (V), disminuyera la actividad de las DHA, lo que se traduciría en una menor concentración de INTF. Sin embargo, aunque son muy pocas muestras (n=3) para llegar a alguna conclusión, se encontró una correlación positiva alta, posiblemente porque el As (III) se presenta donde prevalecen condiciones abióticas reductoras (alta humedad y baja concentración de O<sub>2</sub>) y en ese medio el aceptor de electrones alterno (INT) se reduce (reducción abiótica), por lo que se observa en los resultados un aumento en la actividad de las DHA.

Para diferenciar si los resultados obtenidos son derivados de una reducción biótica o está interviniendo una reducción abiótica, se procedió a realizar otra prueba, en la cual, las muestras se trataron con formaldehído para eliminar las células microbianas, con el fin de evitar la reducción biótica (ver Apéndice métodos II-d)

En la Tabla 3-10 se muestran los resultados del ensayo. Se puede observar que las muestras que contienen sólo As (V) (muestras 10, 11, 12, 21, 22, 24, 32) presentaron una actividad de la DHA por debajo del límite de detección del método; mientras que las muestras con As (III) (muestras 1, 2, 18, 27 y 28) presentaron una respuesta mayor. Se encontró una diferencia significativa ( $\alpha=0.05$ ) en los resultados de la actividad de las DHA entre el grupo de muestras con tratamiento (formaldehído) y el grupo sin tratamiento, tanto en el caso de las muestras que presentaron As (V), como en el que se detectó tanto As (III) como As (V).

Estos resultados indican que, bajo condiciones reductoras (humedad y bajo nivel de O<sub>2</sub>), el método tiene sus limitaciones, ya que la respuesta es la suma de la reducción de INT por los microorganismos y por el componente reductor presente en el suelo, como es el caso reportado aquí con las muestras que presentaron concentraciones detectables de As (III); es por ello que el método no es aplicable en ambientes reductores con un potencial redox igual o menor que el del INT-INTF. Sin embargo, tendría que considerarse la posibilidad que parte de

---

<sup>17</sup> aunque se han identificado algunos microorganismos que presentan mecanismos de resistencia o que pueden, inclusive tomar al arsenato como aceptor de electrones (Switzer, 1998)

esa respuesta pueda ser por microorganismos que hayan soportado el tratamiento con formaldehído.

**Tabla 3-10. Actividad de las DHA (ug/g.h INTF) en muestras de suelo del área de estudio con y sin tratamiento con formaldehído**

Muestras	Actividad de las DHA (ug/g.h INTF)			
	Sin tratamiento		Con tratamiento (formaldehído)	
	Promedio	Desv. Est.	Promedio	DPR**
<b>Zona norte</b>				
1	70.5	3.4	45.6	3.6
2	112.6	12.8	50.3	10.3
18	57.4	5.6	29.0	8.5
11	444.5	23.7	<b>7.1</b>	10.3
12	245.0	14.7	<b>7.8</b>	13.4
10	534.0	21.5	<b>5.7</b>	6.0
<b>Zona poniente</b>				
27	253.0	6.9	49.6	6.4
28	249.1	20.6	46.5	6.0
21	213.6	22.3	<b>4.9</b>	9.6
22	97.5	3.9	<b>7.5</b>	16.0
24	271.3	25.0	11.2	14.9
32	35.9	3.8	11.3	6.7

\*\* DPR: diferencia porcentual relativa.

Los valores en ***negrita cursiva*** están por debajo del límite de detección del método (10 ug/g•h) y los valores en *cursiva*, están por debajo del límite de cuantificación (40 ug/g•h). Las celdas sombreadas corresponden a muestras en las que se detectó As (III).

### 3.6 La actividad enzimática para evaluar el impacto del As sobre los microorganismos en suelos contaminados

Se ha planteado que con la actividad enzimática es factible evaluar el impacto de los contaminantes sobre procesos específicos del suelo. La determinación de la actividad de las DHA tiene el objetivo de evaluar la capacidad oxidativa de poblaciones mixtas desconocidas de microorganismos, aunque los resultados no proporcionan información acerca de la estructura de la comunidad; además, se debe considerar la diversidad metabólica celular individual y poblacional, que conduce a diversos grados de actividad (Dick, 1997).

En este estudio se determinó la actividad de las DHA en función de las concentraciones de As, debido a que, por sus propiedades químicas, algunos de sus compuestos se encuentran entre los más móviles en el ambiente, pero no debe dejar de considerarse que la actividad de las DHA es una respuesta ante un conjunto de condiciones. Los resultados de la actividad

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

enzimática involucran toda una serie de variables que obedecen, no solamente a las concentraciones de As y sus especies, sino que también a los demás componentes –como cadmio, zinc, hierro, azufre, etc.– que forman parte de los jales, así como las interacciones con el suelo, cambios en el pH, conductividad eléctrica y otros factores, especialmente en el área que colinda con el extremo norte de la presa. El estudio se realizó en suelos que han estado sujetos a la influencia de una presa de jales, a lo largo de 15 años de operación de la misma. La presencia de As (III), As (V), así como otras especies potencialmente tóxicas y una variedad de factores (como el aumento en la salinidad, cambios en el pH o el potencial redox, condiciones de humedad, etc.), puede conducir a una disminución en la diversidad microbiana debido a la desaparición de especies que no presentan una tolerancia suficiente como para sobrevivir ante tales condiciones de contaminación y también llevar potencialmente al desarrollo de otras, que sobrevivan en esta situación (Giller *et al.*, 1998).

Una disminución en la capacidad oxidativa microbiana puede ser explicada, por lo menos en parte, por una disminución de la eficiencia en la utilización del sustrato o una disminución en el número de sustratos disponibles. Al conducirse este estudio con las especies nativas de microorganismos, no se tiene control sobre la reserva genética de la población observada y menos se sabe sobre los efectos del contaminante sobre esas especies (Manahan, 1990); sin embargo, se mide la respuesta de una población o comunidad microbiana, que se ha conformado a los largo de varios años ante una situación de estrés.

Se ha propuesto usar la actividad enzimática como un bioindicador en la evaluación de suelos contaminados o para la caracterización de ciclos de nutrientes o de la actividad biológica del suelo (Wenzel *et al.*, 1995). Sin embargo, el uso de indicadores biológicos para determinar un impacto significativo de los contaminantes sobre el suelo es muy tentador, aunque es difícil establecer un criterio sobre lo que representa un impacto "significativo" sobre un parámetro biológico del suelo, ya que, como Dick (1992) señaló, las propiedades pueden variar grandemente bajo condiciones naturales y aún más, si se trata de comparar ambientes diferentes. Doran *et al.* (1996) proponen que los indicadores de la contaminación deben tener los atributos siguientes: 1) sensibilidad a la presencia de un contaminante; 2) capacidad de reflejar diferentes niveles de contaminación; 3) consistencia en el cambio en respuesta a un contaminante dado (por ejemplo, independientemente de la concentración, el indicador siempre aumenta o disminuye); 4) sensibilidad al mayor número posible de contaminantes; y 5) discriminar entre el efecto de contaminación y cualquier degradación anterior del suelo.

Estas condicionantes dejan claro que la determinación de una sola actividad enzimática ofrece una visión limitada de los procesos biológicos que ocurren en el suelo impactado, y no

reflejan en forma total el estatus de un suelo o la actividad metabólica de la microbiota. Se ha propuesto (Trasar-Cepeda *et al.*, 2000) que la medición de varias actividades enzimáticas proporciona una estimación más válida de la respuesta metabólica del suelo a diversas prácticas de manejo, presión ambiental y condiciones climáticas

Los ensayos para medir la actividad enzimática en los suelos se llevan a cabo, por lo general, con muestras que se adicionan con uno o varios contaminantes en el laboratorio, en los que se utilizan sales que, con frecuencia son mucho más solubles que el contaminante y en niveles mucho mayores que los que se encuentran en condiciones reales; no obstante, estos experimentos pueden proporcionar cierta información, por ejemplo, sobre la respuesta de la población microbiana ante la presencia de determinado tóxico a diferentes concentraciones (Welp, 1999).

Existen también reportes sobre el uso de la actividad enzimática para monitoreo ambiental, en los cuales, se mide la respuesta de determinada enzima a diferentes distancias de una fuente de contaminación, o después de una perturbación ambiental, o en prácticas de restauración de suelos; sin embargo, la respuesta que se obtiene es específica para cada sitio y condición dada, por lo que no se cuenta con estándares que definan condiciones óptimas y que permitan hacer comparaciones entre varios tipos de suelo.

Las relaciones entre ciertos factores (como variación en las condiciones del muestreo, pH, humedad) y la actividad enzimática apoyan la hipótesis de que las enzimas del suelo no son bioindicadores adecuados para el monitoreo ambiental a gran escala, ya que es imposible coleccionar varios cientos o más muestras en pocos días, bajo condiciones de tiempo constantes. Por lo anterior, se asume que las enzimas del suelo tienen un valor para hacer un diagnóstico (más que como un indicador o para hacer pronósticos), principalmente, en sitios uniformes que tengan pocos factores variantes, por ejemplo, a lo largo de gradientes de contaminación conocida y con el interés de evaluar los efectos de contaminación sobre la biología del suelo o comparar dos épocas diferentes en una misma área (Wenzel *et al.*, 1995).

En este estudio se consideran varios aspectos para evaluar la afectación de los suelos por la presa de jales; por un lado, se definió la dirección y magnitud de la contaminación por medio de técnicas geoestadísticas; se determinó que las partículas son dispersadas principalmente por el viento, afectando con mayor intensidad el área N-NE (dirección predominante de los vientos). Se compararon los niveles de As con estándares internacionales y con valores de referencia obtenidos del área de estudio.

Las concentraciones totales de As permiten definir el área de afectación, más no los efectos sobre la biología del suelo, por lo que se realizaron otro tipo de pruebas que pongan de manifiesto su disponibilidad y efectos tóxicos ya que, una vez en el suelo, los polvos de jales son susceptibles de interactuar con él (particularmente si hay condiciones de humedad), formar especies solubles y afectar a la microbiota del suelo.

A este respecto, es necesario considerar que la sorción e inmovilización de EPT es una parte esencial de la capacidad amortiguadora del suelo y que el mantenimiento de esta capacidad es una importante contribución al sostenimiento de la "salud" del suelo (Welp, 1999). Se puede decir que, en general, el pH neutro o ligeramente básico de los suelos de la zona de estudio, las condiciones climáticas, entre otros factores, ha prevenido la solubilización de los EPT contenidos en las partículas de jales

En el área se detectó la presencia de As (III) y As (V) solubles y, como se ha mencionado, la especiación es el factor clave que controla la movilidad, disponibilidad y toxicidad de los EPT (Roussel *et al.*, 2000). Se observó que la mayor parte de As soluble se encuentra como As (V) (hasta 2.28 mg/kg en la cercanías de la presa). El As (III) sólo se detectó en dos zonas muy localizadas, en donde prevalecen condiciones de humedad durante todo el año, lo que indica la presencia de un ambiente reductor. Si bien, las concentraciones solubles en los suelos son bajas, en comparación con las totales, los resultados de la prueba de las DHA parecen indicar que el polvo de jales está impactando negativamente la salud del suelo. No se puede afirmar que esta respuesta se deba únicamente al As, pues, como ya se ha mencionado, en los jales se encuentran muchos otros componentes que pueden afectar a las poblaciones de microorganismos.

Como se observa, el suelo es una mezcla compleja de componentes bióticos y abióticos y el desarrollo de procedimientos mediante los cuales se obtenga gran especificidad y aplicabilidad en condiciones reales ante ciertas perturbaciones, es todavía lejano. Sin embargo, este tipo de mediciones, complementadas con otras técnicas multidisciplinarias pueden proporcionar una buena idea de la problemática ambiental.

#### 4 CONCLUSIONES

- Los jales mineros son una fuente importante de contaminación por As y Pb. La dirección SO a NE (vientos dominantes) conforma la vía de dispersión de polvos con mayor potencial de afectación para los suelos de la localidad. Sin embargo el estudio permitió identificar una ruta alterna de dispersión de EPT, que sigue la dirección E-O. El área evaluada colinda con el poblado situado a 1 km al suroeste de la presa de jales.
- En los perfiles, se observó que en la mayoría de los suelos, el As y el Pb se concentran principalmente en la superficie, lo cual posiblemente se puede aplicar a todos los EPT ya que el As se encuentra entre los más móviles.
- Las mayores concentraciones de As y Pb totales se observan en los suelos más cercanos a la presa. En los suelos que colindan con el extremo NO la presa, en donde hay mayor humedad, se observan mayores concentraciones de As que de Pb totales, con respecto a las concentraciones observadas en jales, lo que indica procesos de disolución y/o transporte.
- En los suelos fuera del área de influencia de la humedad, el transporte de jales es por viento y los polvos depositados aparentemente no han estado sujetos a procesos químicos significativos, ya que las concentraciones de As soluble son similares a los reportados para los jales de esta presa (0.2-0.5 mg/kg). En estas muestras no se detectó As (III).
- Se identificaron tres zonas en el área de estudio: a) norte, en donde las concentraciones de Pb en los suelos superficiales son menores o semejantes a las de As, la cual, representa en área con menor nivel de afectación; b) alrededores de la presa y poniente del área de estudio, donde las concentraciones de As y Pb son semejantes a las de los jales; inclusive, hay sitios en donde el contenido de As es más alto; y c) sur de la presa, donde el contenido de Pb es mayor que el de As.
- Las concentraciones de As soluble en agua son mayores en la zona cercana a la presa, que es la que presenta mayores condiciones de humedad a lo largo del año y en donde se determinaron los valores más altos de CE. Concentraciones semejantes se presentan en un área en la zona poniente que, aunque más alejada de la presa, presenta también condiciones de humedad, debido a que están en el curso de una corriente temporal de agua.

- La mayor parte del As soluble se encuentra como As (V) (condiciones oxidantes). En el área en donde se identificó la presencia de As (III) y mayor concentración de As soluble, los valores de pH son similares al resto de la zona pero la humedad es constante a lo largo del año (condiciones reductoras).
- Se encontró una relación inversa entre la concentración As (V) y la de la actividad de las DHA por lo que el método de medición de la actividad de las DHAs (reducción de INT) puede ser utilizado para monitorear una de las funciones del suelo, como es la capacidad oxidativa de la microbiota
- El método de medición de la actividad de las DHA no es útil cuando en los suelos se presentan condiciones reductoras pues en este medio, no se logra distinguir la reducción abiótica de la biótica y el resultado obtenido de la actividad, es la suma de ambas.
- La dispersión de los jales en los alrededores de la presa está afectando ciertos procesos bioquímicos que ocurren en el suelo, como es la capacidad oxidativa de los microorganismos, que se ve reflejada por la inhibición en la actividad de las DHA.

#### SUGERENCIAS PARA ESTUDIOS POSTERIORES

- Se sugieren ensayos con otro tipo de extractantes o técnicas diferentes, además del agua para extraer As
- Determinar las concentraciones (total y extracción secuencial) de otros contaminantes

#### Relativo a la actividad enzimática

- Realizar ensayos con adiciones de jales a los suelos para monitorear la respuesta de los microorganismos
- Analizar otros contaminantes y relacionarlos con la actividad de las DHAs
- Realizar ensayos para medir la biomasa, otras enzimas u otros parámetros biológicos del suelo

#### Con respecto a la presa de jales y el área de influencia

- Analizar las condiciones de escurrimiento que ocurren en la presa de jales
- Analizar el impacto de las variaciones temporales y espaciales de intensidad y dirección de los vientos dominantes.
- Caracterizar los jales antiguos que se encuentran en el poblado para determinar su influencia sobre los suelos de los alrededores.

#### Con respecto a la aplicabilidad del método:

- Determinar los valores de potencial redox en los suelos antes de hacer los ensayos de reducción de INT para determinar si el método puede ser aplicado o no.
- Medir el potencial redox a diferentes tiempos durante el periodo de incubación
- Investigar sobre el método de especiación en las muestras que se incubaron para determinar si el comportamiento del As durante el desarrollo del método.

## BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Armienta H., M.A., Castillo R., R. and Villaseñor, G. (1993) Estudio de reconocimiento de la contaminación por arsénico en la zona de Zimapán, Hidalgo. Inst. de Geofísica, UNAM. México
- Babor, J.A. y J. Ibarz. 1964 Química General Moderna. 7ª. Ed. Editorial Marín. España p. 686
- Benefield, C.B., P.J.A. Howard, and D.M. Howard. 1977. The estimation of dehydrogenase activity in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 9: 67-70.
- Bhumbla, D.K. and R.F. Keefer. 1994. Arsenic mobilization and bioavailability in soils. Cap. 3. *In: Arsenic in Environment. Part I. Cycling and Characterization*. Jerome O. Nriagu (ed.) John Wiley & Sons. pp.51-82.
- Bhupathiraju, V.K., M. Hernández, D. Landfear, and L. Alvarez-Cohen. 1999. Application of a tetrazolium dye as an indicator of viability in anaerobic bacteria. *Journal of Microbiological Methods* 37: 231-243.
- Bowell, R.J. 1994. Sorption of arsenic by iron oxides and oxyhydroxides in soils. *Applied Geochemistry* 9: 279-286
- Bowell, R.J., N.H. Morley, and V.K. Din. 1994. Arsenic speciation in soil porewaters from the Ashanti Mine, Ghana. *Applied Geochemistry* 9: 15-22
- Boyd, S.A. and M.M. Mortland, 1990. Enzyme interactions with clays and clay-organic matter complexes. *In: Soil Biochemistry*, Vol. 6. Marcel Dekker, Inc. New York, U.S.A. pp. 1-28.
- Brzezinska, M., Z. Stepniewska, and W. Stepniewski. 1998. Soil oxygen status and dehydrogenase activity. *Soil Biol. Biochem.* 30(13): 1783-1790.
- Bugg, T. 1997. An introduction to enzyme and coenzyme chemistry. Blackwell Science. USA. pp. 107-132.
- Castellan, G.W. 1987. Fisicoquímica. Addison-Wesley Iberoamericana, S.A. E.U.A. p. 462.
- Comisión Federal de Electricidad (C.F.E.), 1988. Estudio y detección de elementos tóxicos en el área de Villa Juárez, Dgo. II Etapa. Informe Especial, C.F.E.
- Cotton, F.A. y G. Wilkinson. 1973. Química Inorgánica Avanzada. Ed. Limusa-Wiley. México. 1173 pp.
- Cowan, J.A. 1997. Inorganic Biochemistry. An Introduction. J.A. Cowan (ed.). Wiley-VCH. USA. Cap. 8.
- Craig, P.J. 1986. Organometallic compounds in the environment. Principles and Reactions, P. J. Craig (Ed.) John Wiley & Sons. Great Britain. pp. 199-228.
- Craw, D., D. Chappel, M. Nelson, and M. Walrond. 1999. Consolidation and incipient oxidation of alkaline arsenopyrite-bearing mine tailings, Macraes Mine, New Zealand. *Applied Geochemistry* 14: 485-498.
- Cressie, N. 1989. Geostatistics. The American Statistician. Vol.43, No.,4:197-202.
- Cullen, W.R. and K.J. Reimer. 1989. Arsenic speciation in the environment. *Chemical Reviews* 89: 713-764
- Davis, A. and D. Rosalen. 1996. Mineralogic constraints on the bioavailability of arsenic in smelter impacted soils. *Environ. Sci. Technol.* 30 (2): 392.
- Díaz Barriga, F., L. Batres, J. Calderón *et al.* 1997. The El Paso smelter 20 years later: residual impact on Mexican children. *Environmental Research* 74(1): 11-16.

- Diaz-Barriga, F., M.A. Santos, J.J. Mejía, L. Batres, L. Yáñez, L. Carrizales, E. Vera, L.M. Del Razo, and M.E. Cebrián, 1993. Arsenic and cadmium absorption in children living near a smelter complex in San Luis Potosí, México. *Environmental Research* 62:242-250.
- Dick, R.P. 1992. A review of long term effects of agricultural systems on soil biochemical and microbial parameters. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 40: 25-36.
- Dick, R.P. 1997. Soil enzyme activities as integrative indicators of soil health. pp. 121-156. In Biological Indicators of Soil Health C.E. Pankhurst, B.M. Doube, and V.V.S.R. Gupta (eds) CAB International. N.Y. U.S.A.
- Dick, W.A. and M.A. Tabatabai. 1993. Significance and potential uses of soil enzymes. In Applications in Agricultural and Environmental Management. Blaine Metting (ed). Marcel Dekker, Inc. NY. pp. 95-127.
- Doran, J.W., M. Sarrantonio and M.A. Liebig. 1996. Soil health and sustainability. In: Sparks, D.L. (editor) Advances in Agronomy Academic Press, NY (in press). Citado en Dick, R.P. 1997 Biological Indicators of Soil Health C.E. Pankhurst, B.M. Doube, and V.V.S.R. Gupta. (eds) CAB International. N.Y. U.S.A.
- Dowdle, P.R., A.M. Laverman, and R.S. Oremland. 1996. Bacterial reduction of arsenic (V) to arsenic (III) in anoxic sediments. *Applied Environmental Microbiology* 62: 1664-1669
- Dragun, J. 1988. The Soil Chemistry of Hazardous Materials. USA.
- Driessen, A.J.M., B.P. Rosen, and W.N. Konings. 2000. Diversity of transport mechanisms: common structural principles. *Trends in Biochemical Sciences*. 25(8):397-401.
- Dugas, H. 1995 Biorganic Chemistry. A chemical approach to enzyme action. 3a, ed. Springer-Verlag USA. pp. 482-485.
- Eisler, R. 1994. A review of arsenic hazards to plants and animals with emphasis on fishery and wildlife resources. Cap. 11. In: Arsenic in Environment. Part II. Human Health and Ecosystem Effects. Jerome O. Nriagu (ed.) John Wiley & Sons pp.185-259.
- EPA. 1985. Ambient water quality criteria for arsenic-1984 Washington D C
- Farini, A., C. Gigliotti, and M.V. Vandoni. 1988. Evaluation of the dehydrogenase activity of the soil. *Annual Microbiology* 38: 223-229.
- Fergusson, J.E., 1990 The Heavy Elements: Chemistry, Environmental Impact and Health Effects. Pergamon Press Great Britain, p. 614.
- Floss, R. and Hellerer, H.O. 1991. Untersuchungen bei Verdacht auf kontaminierten Baugrund. 15. Mültechnisches Saminar Sanierung Kontaminierten Böden. *Berichte aus Wassergüte und Abfallwirtschaft. Technische Universität München* No. 108.
- Federal Office of Environment, Forests and Landscape (FOEFL) 1996. Regional soil contamination surveying *Environmental Documentation* No. 25. Berna, Suiza, 43 p
- Francis, S., B. and Magnus 1994. Toxic Substances in the Environment S. Francis and B. Magnus (eds), John Wiley & Sons USA. p. 23.
- Friedel, J.K., K. Mölter, and W.R. Fischer. 1994. Comparison and improvement of methods by determining soil dehydrogenase activity by using triphenyltetrazolium chloride and idonitrotetrazolium chloride *Biology and Fertility of Soils* 18: 292-296.
- Frisco. 1998. Información acerca de los datos de producción de la Mina en Zacatecas. Documento interno inédito. México.

- Galvão, L.A.C. y Corey, G. 1987. Arsénico. Serie Vigilancia 3 Organización Panamericana de la Salud. Organización Mundial de la Salud
- García, C., T. Hernández, and F. Costa 1994. Microbial activity in soils under Mediterranean environmental conditions. *Soil Biology and Biochemistry* 21: 1185-1191.
- Geiszinger, A., W. Goessler, D. Kuehnelt, K. Francesconi, and W. Kosmus. Determination of arsenic compounds in earthworms. *Environmental Science & Technology* 32 (15): 2238-2243.
- GEO-EAS, Dominio Público, EPA, Nevada, USA.
- Giller, K.E., E. Witter, and S.P. McGrath. 1998. Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: A review. *Soil Biology and Biochemistry* 30 (10/11): 1389-1414
- Gómez P., J., 1991. Estudio de los residuos sólidos y aguas de una zona minera y su efecto sobre el ambiente. Tesis Maestría. Fac. de Química, UNAM. México.
- Gorby, M.S. 1994. Arsenic in human medicine Cap 1. *In: Arsenic in Environment. Part II. Human Health and Ecosystem Effects*. Jerome O. Nriagu (ed.) John Wiley & Sons. pp 1-16
- Griffiths, B.S. 1989. Improved extraction of iodinitrotetrazolium formazan from soil with dimethylformamide. *Soil Biology and Biochemistry* 21: 179-180.
- Gulens, J., D.R. Champ, and R.E. Jackson. 1989. Chemical modelling in aqueous system. E.A. Jenne (Ed.) ACS Symposium Series 93. American Chemical Society. Washington, D.C. pp. 81-95.
- Gutiérrez M. y P. Macas. 1999. Sistemas integrales de valorización de desechos *Revista Panorama Ambiental. AIDIS-Puerto Rico* 4(1): 21-27.
- Gutiérrez Ruiz, M. y J.E. Santos. 1999. Impacto ambiental en el entorno de un depósito de jales: un enfoque general. Geotecnia y Manejo de Residuos Mineros Sociedad Mexicana de Mecánica de Suelos, A.C. pp 51-63.
- Gutiérrez-Ruiz, M.E. y Turrent Moreno, M. 1995. Los residuos en la minería mexicana. *In: Residuos Peligrosos en México*. Taller para el Desarrollo Sustentable. Ed. Garfas y Ayala, F. y J. Luis Barajas Weber. SEMARNAP, INE. pp. 37-47.
- Haanstra, L. and P. Doelman, 1991. An ecological dose-response model approach to short and long-term effects of heavy metals on arylsulphatase activity in soil. *Biology and Fertility of Soils* 11: 18-23
- Hassler, E.A., D.A. Klein and R.R. Meglen. 1984. Microbial contributions to soluble and volatile arsenic dynamics in retorted oil shale. *Journal of Environmental Quality* 13: 466-470.
- Haswell, S.J., P. O'Neill, and K.C. Brancroft 1985. Arsenic speciation in soil minewaters from mineralized and unmineralized areas of south west England. *Talanta* 32: 69-72.
- Hess, R.E. and R.W. Blanchar. 1976 Arsenic stability in contaminated soils *Soil Sciences Society American Journal* 40: 847-852.
- Hesse, P.R. 1971. A Textbook of Soil Chemical Analysis John Murray (ed.) Great Britain.
- Holm, T.R., M.A. Anderson, D.G. Iverson, and R.W.S. Stanforth. 1979. Heterogeneous interactions of arsenic in aquatic systems. *ACS Symposium Series* 93: 711-736.
- Howard, P.J.A. 1972. Problems in the estimation of biological activity in soil, *Oikos* 23: 235-240

- Hughes, M.K., N.W. Lepp, and D.A. Phipps, 1980. Aerial heavy metal pollution and terrestrial ecosystems. In: A. Macfayden (ed.) Advances in Ecological Research. Vol. 11, Acad Press, London. pp. 217-327.
- Hwang, Y.H., R.L. Bornschein, J. Grote, W. Menrath, and S. Roda. 1977. Environmental arsenic exposure of children around a former copper smelter site. *Environ Res.* 1997 Jan; 72(1):72-81
- INEGI. 1971. Carta topográfica Loreto F-14-A-71. SPP México.
- INE-SEDESOL, 1993. Residuos peligrosos en el mundo y en México. Serie Monografías No 3. Secretaría de Desarrollo Social, México.
- Jain, C.K. and E. Ali. 2000. Arsenic: Occurrence toxicity and speciation techniques. *Water Resources*, 34(17): 4304-4312.
- Jones, C.A.; H.W. Langner, K. Anderson, T.R. McDermott, and W.P. Inskeep. 2000. Rates of microbially mediated arsenate reduction and solubilization. *Soil Science Society American Journal* 64: 600-608
- Kabata-Pendias, A. and Pendias, H., 1984. Trace elements in soils and plants. CRC U.S.A
- Knowles, F.C., and A.A. Benson. 1983. The biochemistry of arsenic. *Trends in Biochemistry Science* 8: 178-180.
- Koolman, J. and K-H Röhm. 1996. Color Atlas of Biochemistry. Ed, Thieme Stuttgart-New York. 435 pp
- Lafqa, 2001. Diagnóstico Ambiental de la Planta de Cobre, San Luis Potosí (Primera etapa)- Informe Técnico. Laboratorio de Análisis Físicos y Químicos del Ambiente, UNAM. 117 p.
- Landis, W.G. and M-H Yu. 1995. Ecological risk assessment and environmental toxicology. In: Introduction to Environmental Toxicology. Impacts of Chemicals upon Ecological System. W.G. Landis and M-H Yu (eds). CRC Press. Lewis Publishers. USA. pp 251-269.
- Lindsay, W.L., 1979. Chemical equilibria in soils. John Wiley, New York. U.S.A. pp. 50-54, 78, 204, 238-297
- Malcomes, H.P. 1991. Vergleich der TTC- und INT-Reduktion zum Nachweis von Pflanzenschutzmittelwirkungen auf die Dehydrogenaseaktivität im Boden. Nachrichtenbl Dtsch Pflanzenschutzd 43: 52-57. Citado en: Friedel, J.K., K. Mölter, W.R. Fischer. 1994. Comparison and improvement of methods by determining soil dehydrogenase activity by using triphenyltetrazolium chloride and idonitrotetrazolium chloride. *Biol. Fertil. Soils* 18: 292-296.
- Manahan, S.E. 1990. Environmental Chemistry. Stanley E. Manahan (Ed) 4a. Ed. Lewis Publishers, USA. pp, 505-509
- Masscheleyn, P.H., R.D. Delaune, and W.H. Patrick Jr. 1991. Effect of redox potential and pH on arsenic speciation and solubility in a contaminated soil. *Environmental Science & Technology* 25 (8): 1414-1419
- Maurines-Carboneill, C., J. Jacques Pernelle, L. Morin, G. Sachon, and G. Leblon. 1998. Relevance of the INT test response as an indicator of ETS activity in monitoring heterotrophic aerobic bacterial populations in activated sludges. *Water Resources* 32(4) 1213-1221
- Miller, W.P., W.W. McFee, and J.M. Kelly, 1983. Mobility and retention of heavy metals in sandy soils. *Journal of Environmental Qual.* 12: 579-584
- Moffett, J. 1988. The determination of arsenic in non-silicate geological ore samples using a vapor generation accessory. *Varian AA-78*: 4p

- Moreno, J.L., C. García, L. Landi, L. Falchini, G. Pietramellara, and P. Nannipieri. 2001. The ecological dose value (ED50) for assessing Cd toxicity on ATP content and dehydrogenase and urease activities of soil. *Soil Biology & Biochemistry* 33: 483-489.
- Myers, D.E., 1991. Interpolation and estimation with spatially located data. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 11: 209-228
- Nannipieri, P. and L. Gianfreda. 1998. Kinetics of enzyme reactions in soil environments. In: Structure and Surface Reactions in Soil Particles. P.M. Huang, N. Senesi and J. Buffle (Ed.) John Wiley and Sons LTD. USA. pp. 450-475.
- National Academy of Sciences (NAS). 1977. Arsenic. NAS, Washington, D.C. Citado en Nriagu, J.O. 1994. Arsenic in Environment. Part II. Human Health and Ecosystem effects. Jerome O. Nriagu (ed.) John Wiley & Sons. 430 pp.
- Nriagu, J.O., and Azcue, J.M., 1990. Environmental sources of arsenic in food. *Advances in Environmental Science and Technology* 23:103-127.
- Obbard, J.P. 2001. Ecotoxicological assessment of heavy metals in sewage sludge amended soils. *Applied Geochemistry* 16: 1405-1411.
- Olsen, S.R. and L.E. Sommers. Phosphorus. pp. 403-430. In: A.L. Page (ed.) Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties. 2a. ed. Agronomy No. 9. American Society of Agronomy Inc., Wisconsin, U.S.A.
- Onken, B.M. and R. Hossner. 1995. Plant uptake and determination of arsenic species in soil solution under flooded conditions. *Journal of Environmental Quality* 24: 373-381.
- Ordoñez, C., J.E. 1986. Minas Mexicanas. Tomo 1. American Institute of Mining Metallurgical and Petroleum Engineers. Sección México. Society of Economic Geologists pp. 234.
- Ortiz Hernández, M.L., E. Sánchez Salinas; M.E. Gutiérrez Ruiz. 1993. Análisis de Suelos. Fundamentos y Técnicas. Parte 1. Ed. Universidad Autónoma de Morelos. México. 104 pp.
- Oscarson, D.W.; P.M. Huang, C. Defosse and A. Herbillon. 1981. Oxidative power of Mn(IV) and Fe(III) with respect to As (III) in terrestrial and aquatic environments. *Nature (London)* 191: 50-51
- Pancholy, S.K., E.L. Rice, and J.A. Turner. 1975. Soil factors preventing revegetation of a denuded area near abandoned zinc smelter in Oklahoma. *J. Appl. Ecol.* 12: 337-342
- Pankhurst, C.E., B.M. Doube and V.V.S.R. Gupta. 1997. Biological indicators of soil health. In: Biological Indicators of Soil Health. C. Pankhurst, B.M. Doube and V.V.S.R. Gupta (eds.) CAB International. p. 425.
- Parker, G.R., W.W. McFee, and J.M. Kelly, 1978. Metal distribution in forested ecosystem in urban and rural Northwestern Indiana. *Journal of Environmental Quality* 7: 381-385.
- Pascoe, et al., 1994. En US Dep. Health & Human Services, 1998. Toxicological Profile for Arsenic (Update). Draft for Public Comment. Comment period Ends: February 22, 1999. Contract No. 205-93-0606. Atlanta, Georgia. USA.
- Pascual, J.A., T. Hernández, C. García & M. Ayuso 1998. Enzymatic activities in an arid soil amended with urban organic wastes: laboratory experiment. *Bioresource Technology* 64: 131-138.
- Pershagen, 1981. The carcinogenicity of arsenic. *Environmental Health Perspectives* 40: 93-100. Review.
- Ping Gong. 1997. Dehydrogenase activity in soil: a comparison between the TTC and INT assay under their optimum conditions. *Soil Biology and Biochemistry* 2: 211-214.

- Ripley, E.A.; R.E. Redmann, and A.A. Crowder. 1996 Environmental Effects of Mining. St. Lucie Press. Flo. USA 356 pp.
- Rochette, E.A., G.C. Li, and S.E. Fendorf. 1998. Stability of arsenate minerals in soils under biotically generated reducing conditions. *Soil Science Society American Journal* 62: 1530-1537
- Rodie, A., J.J. P. Gerits, and J.M. Azcue, 1995. Biochemical Pathways of arsenic in lakes. *Environmental Review* 3: 304-317
- Rosen, B.P. 1999. Families of arsenic transporters. *Trends in Biochemical Sciences*. 7(5): 207-212
- Rosen, B.P., U. Weigel, C. Karkaria, and P. Gangola. 1988. Molecular characterization of an anion pump. *Journal of Biological Chemistry* 263: 3067-3070
- Ross, S. 1989. Soil Processes. A Systematic Approach. Routledge, Chapman and Hall. USA. pp 103-126.
- Roussel, C., C. Néel, and H. Bril. 2000. Minerals controlling arsenic and lead solubility in an abandoned gold mine tailings. *The Science of the Total Environment* 263(1-3): 209-219.
- Sadiq, M. 1997. Arsenic chemistry in soils: an overview of thermodynamic predictions and field observations. *Water, Air, and Soil Pollution* 93: 117-136.
- Sadiq, M., T.H. Zaidi, and A.A. Mian. 1983. Environmental behavior of arsenic in spills. Theoretical. *Water, Air and Soil Pollution*. 20: 369-377
- Samper, F. y J. Carrera. 1990. Geoestadística. Aplicaciones a la hidrogeología subterránea. Centro Internacional de Métodos Numéricos en Ingeniería. Barcelona, España. 479 pp
- Sánchez- Crispín., A. 1997. Distribución y evolución de la producción minera en las zonas áridas de México: una perspectiva geográfico-económica. Geografía y Desarrollo. IGG Núm. 15. Pp 127-148.
- SEMIP. 1991. Monografía Geológico-Minera del Estado de Zacatecas. Consejo de Recursos Minerales. Secretaría de Energía, Minas e Industria. Paraestatal Subsecretaría de Minas e Industria Básica. Publicación 22. 154p.
- Skujins, J. 1978. History of abiotic soil enzyme research. In: Soil Enzymes. Academic Press, London, New York and San Francisco. pp. 1-49
- Smith, J.J. and G.A. McFeters. 1997. Mechanisms of INT (2-(4-iodophenyl)-5-phenyl tetrazolium chloride), and CTC (5-cyano-2,3-ditoyl tetrazolium chloride) reduction in *Escherichia coli*. *Journal of Microbiological Methods* 29: 161-175.
- Sommer-Cervantes I., P. Fernández-Lomelín, H. Rivas-Solórzano y M.E. Gutiérrez-Ruiz. 2000. La geoestadística como una herramienta en estudios de contaminación de suelos. Estudio de caso. Afectación de suelos por As, Cd y Pb contenidos en jales mineros. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 16(4): 205-214
- Speir, T.W., D.J. Ross, C.W. Feltham, V.A. Orchard and G. Yeates. 1992. Assessment of the feasibility of using CCA (copper, chromium and arsenic)-treated and boric acid treated sawdust as soil amendments. II. Soil biochemical and biological properties. *Plant and Soil* 142: 249-258
- Spothelfer-Magaña J., A. Thalmann. 1992. Eine verbesserte Methode zur Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität von Böden unter Einsatz von Iodonitrotetrazoliumchlorid (INT). *Agrobiol Res* 45: 244-25. En: Friedel, J.K., K. Mölter, W.R. Fischer 1994. Comparison and improvement of methods by determining soil dehydrogenase activity by using triphenyltetrazolium chloride and Iodonitrotetrazolium chloride. *Biology and Fertility of Soils* 18: 292-296.

- Stein, A. and I.G. Staritsky. 1995. Spatial variability of soil contamination and the consequences for environmental risk assessment. The Netherlands Integrated soil researches programme reports Vol.4. Grafisch Service Centrum Van Gills B.V., Wageningen, The Netherlands. 50 pp.
- Stolz, J.F., and R.S. Oremland. 1999. Bacterial respiration of arsenic and selenium. *FEMS Microbiology Review*. 23: 615-627.
- Stryer, L. 1995. Bioquímica, 4ª. Ed. Ed. Reverté, S.A. Barcelona, España. Tomos I y II.
- Suzuki, Y., Y. Suzuki, N. Fujii, and T. Mouri. 1974. Environmental contamination by arsenic around a smelter. *Shikoku Igaku Zasshi* 30(3): 213-118. In: Arsenic in Environment. Part I. Cycling and Characterization. Jerome O. Nriagu (ed.) John Wiley & Sons.
- Switzer Blum, J., A.B. Bindi, J. Buzzelli, J.F. Stolz, and R.S. Oremland. 1998. *Bacillus arsenicoselenatis* a sp. Nov.: two haloalkaliphiles, from Mono Lake, California, which respire oxyanions of selenium and arsenic. *Arch. Microbiol* 171: 19-30. Citado en: Stolz, J.F., and R.S. Oremland. 1999. Bacterial respiration of arsenic and selenium. *FEMS Microbiology Review*. 23: 615-627.
- Tabatabai, M.A. 1994. Soil Enzymes. In: Methods of Soil Analysis. Part 2. Microbial and Biochemical Properties. R.W. Weaver, S.H. Mickelson, and J.M. Bigham (eds). Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, U.S.A.
- Tamaki, S. and W.T. Frankenberger Jr. 1992. Environmental biogeochemistry of arsenic. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 124: 79-110.
- Thalmann, A. 1968. Zur Methodik der Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität im Boden mittels Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC). *Landwirtsch Forsch* 21: 249-258. En Trevors, J.T. 1984. Dehydrogenase activity in soil. A comparison between the INT and TTC assay. *Soil Biology & Biochemistry* 14: 673-674.
- Trasar-Cepeda, C., M.C. Leirós, S. Seoane, S. Gil-Sotres. 2000. Limitations of soil enzymes as indicators of soil pollution. *Soil Biology & Biochemistry* 32: 1867-1875.
- Trevors, J.T. 1984. Dehydrogenase activity in soil. A comparison between the INT and TTC assay. *Soil Biology & Biochemistry* 14: 673-674.
- Trevors, J.T., C.I. Mayfield, and W.E. Inniss. 1982. Measurement of electron transport system (ETS) activity and respiration in soil. *Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology* 31: 595-598.
- Tuominen, L., T. Kairesalo, H. Hartikainen. 1994. Comparison of methods for inhibiting bacterial activity in sediment. *Applied Environmental Microbiology* 60(9): 3454-3457.
- Turpeinen, R., M. Pääntar-Kallio, M. Häggblom, T. Kairesalo. 1999. Influence of microbes on the mobilization, toxicity and biomethylation of arsenic in soil. *The Science of the Total Environment* 236: 173-180.
- US Dep. Health & Human Services, 1998. Toxicological Profile for Arsenic (Update). Draft for Public Comment. Comment period Ends: February 22, 1999. Contract No. 205-93-0606. Atlanta, Georgia, USA.
- USGS, 1999. Arsenic in groundwater of the Willamette Basin, Oregon. U.S. Geological Survey. [http://or.usgs.gov/pub\\_dir/Abstracts/98-4205.html](http://or.usgs.gov/pub_dir/Abstracts/98-4205.html). August 23, 1999.
- Varian. 1989. Flame Atomic Spectrometry. Analytical methods. Publication No. 85-100009-00. Varian Australia Pty Ltd. Australia. 146 pp.
- Varian. 1996. Vapor Generation Accessory VGA-77. Operation Manual. Publication No. 85-101047-00. Varian Australia Pty Ltd. Australia. 53 pp.

- VAROWIN, Software for Spatial Data In: 2D, Springer-Verlag, 1996.
- von Mersi, W, F Schinner, 1991 An improved and accurate method for determining the dehydrogenase activity of soils with idonitrotetrazolium chloride. *Biol. Fertil. Soils* 11: 216-220.
- Webster, R. 1994. The development of pedometrics In: *Geoderma* 62:1-5. Elsevier Science B.V., Amsterdam.
- Welch, A., M. Lino y J. Hughes. 1988 Arsenic in groundwater of the Western United States. *Groundwater* 3, 26.
- Welp, G. 1999. Inhibitory effects of the total and water soluble concentrations of nine different metals on the dehydrogenase activity of a loess soil. *Biology and Fertilitu of Soils* 30: 132-139.
- Wenzel, W.W., M.A. Pollak, Ch Riedler, R.R. Zischka. 1995. Influence of site conditions and heavy metals on enzyme activities of forest topsoils. In: Environmental Impact of Soil Component Interactions. Metal, Other Organics, and Microbial Activities. P.M. Huang, J. Berthelin, J.-M. Bollag, W.B. McGill, A.L. Page (Eds.). CRC Press, Lewis Publishers, USA. pp 211-225.
- Witter, E. 1992. Heavy Metal Concentrations in Agricultural Soils Critical to Microorganisms. Report No 4079. Swedish Environmental Protection Agency, Solna. En Giller, K.E., E. Witter, and S.P. McGrath. 1998. Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: A review. *Soil. Biol. Biochem* 30 (10/11): 1389-1414.
- Woolson, E.A. 1977. Generation of alkylarsines from soils. *Weed Science* 25:412- 416.
- Woolson, E.A. 1983 Topics in Environmental Health: Biological and Environmental Effects of Arsenic. B.A Fowler (Ed.). Elsevier. Amsterdam. Vol. 6, p 51.
- Yan-Chu, H. 1994. Arsenic Distribution in soils. Cap 2. In: Arsenic in Environment. Part I. Cycling and Characterization. Jerome O. Nriagu (ed.) John Wiley & Sons. pp.17-49
- Zhang R, Rahman S, Vance F, Munn L. 1995 Geostatistical Analyses of Trace Elements in Soils and Plants. *Soil Science* 159. No. 6.

## APÉNDICES

### MÉTODOS

#### *I. Métodos para la caracterización física y química de muestras de suelos y jales*

Todas las técnicas se hacen por duplicado y los reactivos son marca Baker grado reactivo.

#### **I. a.- Determinación del tamaño de las partículas por el método del hidrómetro de Bouyoucos**

(Ortiz *et al.*, 1993)

Material:

- Densímetro marca Robsan Bouyoucos ASTM-152-H, con escala en g/L
- Baño maría marca Thelco modelo 84.
- Termómetro marca Brannan, con graduación de -10 a 400°C.
- Cronómetro marca Micronta.
- Mezclador eléctrico marca Hamilton Beach.
- Émbolo (sobre el centro de una placa circular de acrílico, de 0 16 cm de espesor y 6 24 cm de diámetro, está una varilla fija de 50 cm de longitud y 0.67 cm de diámetro).
- Probeta graduada de 1000 mL.
- Vaso de precipitado de 600 mL.

Reactivos:

- Peróxido de hidrógeno al 8% A 266.7 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> AL 30% aforar a 1 litro con agua destilada.
- Solución de calgón al 10%. Disolver 50 g de hexametáfosfato de sodio en agua destilada y ajustar el pH a 8.3 con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, agregar 30 mL de NH<sub>4</sub>OH concentrado para evitar que floculen las arcillas. Aforar a un litro con agua destilada

Procedimiento:

1. Pesar 55 g de suelo seco al aire y colocarlo en un vaso de precipitado de 600 mL.
2. Agregar 20 mL de la solución de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para destruir la materia orgánica
3. Colocar el vaso en un baño de agua a temperatura de ebullición. Agitar la muestra con varilla de vidrio durante el calentamiento. Dejar evaporar la mayor parte de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.
4. Agregar nuevamente 20 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ponerlo en baño maría y agitar

5. Una vez que la muestra ha dejado de efervecer, se procede a lavar la muestra con agua destilada.
6. Colocar la muestra a 105°C a sequedad. Colocar el vaso en el desecador. Dejar enfriar
7. Pesar 50 g del suelo ya seco y colocarlo en el vaso mezclador eléctrico.
8. Agregar 10 mL de calgón.
9. Verter el contenido del vaso a una probeta de 1000 mL. Aforar al volumen con agua destilada.
10. Hacer un blanco tomando una probeta de 1000 mL, añadir la misma cantidad del reactivo dispersante. Aforar al volumen y seguir todas las indicaciones al igual que las muestras.
11. Agitar el contenido de la probeta durante un minuto con el agitador.
12. Tomar la lectura con el hidrómetro a los 40 segundos (La), cuidadosamente para no perturbar la suspensión. Registrar la temperatura.
13. Registrar las mismas mediciones para el blanco (Lb).
14. Tomar una lectura adicional a las 2 horas (Lc), así como su temperatura.
15. Repetir el paso anterior para el blanco (Ld)
16. En los casos en que la lectura no pueda ser tomada debido a la presencia de espuma en la superficie se pueden añadir 2 gotas de alcohol isopropílico, haciendo que resbalen a lo largo de la reglilla del hidrómetro.

Cálculos:

$$\% \text{ de limos y arcillas} = \frac{La - Lb}{\text{peso del suelo seco}} (100)$$

$$\% \text{ de arcillas} = \frac{Lc - Ld}{\text{peso del suelo seco}} (100)$$

$$\% \text{ de arenas} = 100 - \% \text{ limos y arcillas}$$

$$\% \text{ de limos} = \% \text{ de limos y arcillas} - \% \text{ de arcilla}$$

En donde: La es igual a la lectura del hidrómetro tomada a los 40 segundos,  
 Lb es la lectura del hidrómetro para el blanco, tomada a los 40 seg.,  
 Lc es la lectura del hidrómetro tomada a las 2 horas,  
 Ld es la lectura del hidrómetro para el blanco, tomada a las 2 horas.

Por cada grado arriba de 20° C se agrega a la lectura 0.2 y por cada grado abajo de dicha temperatura, se le disminuye la misma cantidad.

Realizar la clasificación textural del suelo con la ayuda del triángulo textural.

### **I. b.- Determinación de pH en relación 1:2.5 suelo-agua**

(Ortiz *et al.*, 1993)

Material y reactivos:

- Balanza semianalítica marca Sartorius modelo 1416MP8 (precisión 0.01 g)
- Agitador mecánico marca Eberbach (60 ciclos).
- Potenciómetro Accumet modelo 10.
- Frascos de vidrio con tapa de plástico de 100 mL
- Agua destilada
- Piseta

Procedimiento:

1. Pesar 10 g de suelo y colocarlos en frascos de vidrio debidamente marcados y por duplicado.
2. Añadir 25 mL de agua destilada y tapar perfectamente con un tapa de plástico.
3. Colocar los frascos en el agitador mecánico, teniendo cuidado de que queden bien fijos. Agitar durante una hora. Dejar sedimentar las muestras.
4. Medir los valores del pH. Lavar el electrodo después de cada lectura. Calibrar cada 15 muestras.
5. Guardar los frascos con la suspensión para la determinación de la conductividad eléctrica

### **I c.-Digestión de suelos para la determinación de EPT totales**

Equipo y reactivos:

- Balanza semianalítica marca Sartorius modelo 1416MP8
- Horno de microondas marca Berghoff
- HCl concentrado
- HNO<sub>3</sub> concentrado
- Agua nanopura.
- Charolas para pesar.
- Espátula
- Vasos de teflón.

- Pipetas de 5 y 10 mL.
- Matraces volumétricos de 50 mL.
- Propipeta.
- Botes de polietileno.
- Filtros Whatman No. 540.
- Embudos de plástico.
- Piseta.

NOTA: Todos los reactivos son marca Baker grado reactivo

El agua nanopura se obtiene del purificador marca Bamstead, modelo  
NANOpure (18.3 M $\Omega$ -cm)

Procedimiento:

1. Pesar 0.3 g de muestra y colocarlo en un vaso de teflón para horno de microondas. Adicionar 2.5 mL de HCl + 7.5 mL de HNO<sub>3</sub>.
2. Cerrar los vasos y colocarlos en el horno de microondas.
3. Programar el horno de microondas a una temperatura de 170°C durante 20 minutos y a 110°C, 20 minutos mas.
4. Dejar enfriar y filtrar.
5. Transferir el filtrado a matraces volumétricos de 50 mL.
6. Guardar en recipientes de polietileno y refrigerar hasta su determinación.

#### **1 d.- Determinación de As por EAA-GH**

*Pretratamiento de estándares y muestra (Moffett, 1988)*

Reactivos:

- Estándar certificado de As de 1000 mg/L marca AccuStandard
- Ácido clorhídrico concentrado (HCl).
- Ioduro de potasio (KI) al 10%.
- Hidrocloruro de hidroxilamina (NH<sub>2</sub>OH.HCl) al 20%.
- Agua nanopura

*Procedimiento para el pretratamiento de muestras:*

1. Transferir una alícuota de la muestra (a temperatura ambiente) en matraces volumétricos de 25 mL,
2. Agregar 2 mL de HCl concentrado, 2.5 mL de NH<sub>2</sub>OH.HCl al 20%, 2.5 mL de KI al 10%.

3. Aforar con agua nanopura
4. Dejar a temperatura ambiente durante 1 hora antes de proceder a la determinación de las concentraciones de As en el EAA.

*Procedimiento para la preparación y pretratamiento de estándares:*

1. A partir de un estándar certificado de As marca AccuStandard de 1000 mg/L, preparar un estándar de As de 1000 mg/L, con el cual, se preparan los estándares de trabajo: adicionar el volumen necesario en matraces volumétricos de 50 mL para obtener estándares de As de 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 20, 25 y 30 mg/L y un blanco.
2. Agregar a cada matraz: 4 mL de HCl concentrado, 5 mL de  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$  al 20% y 5 mL de KI al 10%.
3. Aforar con agua nanopura.
4. Dejar a temperatura ambiente durante 1 hora antes de proceder a determinar la curva de calibración en el equipo EAA.

*Determinación de arsénico total en el EAA-generador de hidruros*

Equipo y material:

- Espectrofotómetro de Absorción Atómica (EAA) Varian modelo SpectrAA-10Plus, equipado con una cabeza de quemador universal de 10 cm, flama aire-acetileno.
- Generador de hidruros modelo Varian VGA-77.
- Impresora Epson FX-870 conectada al EAA.
- Celda de cuarzo abierta por los dos extremos (170 mm de longitud y 13 mm de diámetro y un angostamiento en la parte central de 60 mm de longitud y 6 mm de diámetro).
- Lámpara de cátodo hueco de As marca Varian.
- Gases: aire comprimido y filtrado, acetileno y nitrógeno con reguladores apropiados.
- Campana extractora de gases.

Reactivos:

- Borohidruro de sodio ( $\text{NaBH}_4$ ) al 0.6%, diluido en 10 mL de solución acuosa de NaOH al 5%.
- Hidróxido de sodio (NaOH) al 5% diluido en agua nanopura (10 mL).
- Ácido clorhídrico (HCl) 50%.
- Agua desionizada

*Parámetros instrumentales para la determinación de arsénico*

<b><i>Espectrofotómetro de Absorción Atómica A</i></b>	
<b>Componente operativo</b>	<b>Parámetros</b>
Fuente de luz	Lámpara de As de cátodo hueco
Corriente de la lámpara	10mA
Longitud de onda	193.7 nm
Ancho de ventana	0.5 nm
Corrector de fondo	prendido
Control de señal	altura del pico
Tiempo de lectura del pico	3 segundos
Número de lecturas	5
Modo de operación	Absorbancia
Tasa de flujo de gas	
Aire	10 L/min.
Acetileno	1.5 L/min.
<b><i>Generador de Hidruros</i></b>	
<b>Componente operativo</b>	<b>Parámetros</b>
Gas acarreador	N <sub>2</sub>
Presión del gas	3.5 psi
Canal reductor	NaBH <sub>4</sub> (0.6% en NaOH 0.5%)
Canal ácido	HCl (8M)
Volumen canal ácido y reductor	1 mL/min
Volumen de la muestra	7-8 mL/min.

El límite de detección del método es de 0.6 ug/L y el intervalo de trabajo es de 2.5-30 ug/L.

**I.f.- Arsénico soluble en agua: total, As (V) y As (III)****Extracción de arsénico soluble****Materiales:**

(Olsen y Sommers, 1982)

**Material y reactivos:**

- Agitador mecánico marca Orbit
- Balanza Sartorius modelo 1416MP8
- Tubos de centrifuga
- Recipientes de plástico con tapa
- Papel filtro Whatman Núm. 542
- Agua desionizada

Para la determinación del tiempo de agitación en los ensayos de extracción de la solución para determinar As total, As (III) y As (V), se hicieron pruebas con adiciones de As (III) y As (V) (300 ppb). El tiempo de agitación para cada prueba fue de 15, 30, 45, 60, 75 y 90 minutos. Se hizo una determinación cuantitativa de As (III) y As (V) haciendo pasar la muestra filtrada (0.45  $\mu\text{m}$ ) a través de una columna de intercambio aniónico, usando el EAA-GH como detector. Las muestras se iban leyendo inmediatamente después del tiempo de agitación. Los ensayos muestran que después de 60 minutos se observa un aumento en la concentración de As (V) y disminución de As (III).

La extracción As soluble en agua se realizó en tubos de centrifuga, a la muestra se agregó agua deionizada a temperatura ambiente (previamente calentada durante 15 minutos a 85°C). Los tubos se taparon con tapones de hule y se colocaron en un agitador mecánico marca Orbit durante 60 minutos a 100 rpm. Las muestras se filtraron con filtros de papel No 542 y para la especiación, con membranas de nylon (0.45 $\mu\text{m}$ ) y se determinó As (III) y As (V) conforme se terminaba la extracción. Los análisis se hicieron por triplicado. El ensayo se hizo de forma escalonada, poniendo en agitación cada muestra (triplicado), cada 20 minutos, con el objeto de que el tiempo entre la finalización de la extracción y la determinación de As (III) y As (V), fuera el menor posible.

**Procedimiento:**

1. Pesar 5 g de suelo en un tubo para centrifuga.
2. Añadir 20 mL de agua destilada.
3. Tapar el recipiente con tapones de hule.
4. Colocar el recipiente en el agitador mecánico y agitar continuamente durante 60 minutos.
5. Filtrar la solución

### ***Determinación de As total por EAA-generador de hidruros***

Tomar una alícuota de la solución y proceder de la misma manera que para el pretratamiento de muestras y estándares para la determinación de arsénico total

#### **I. g.-Determinación de As (III) y As (V) por HPLC-EAA-generador de hidruros**

Todas las soluciones se prepararon con agua desionizada.

##### *Estándares*

Solución de 1000 mg/L de As (III):  $\text{NaAsO}_2$  (Fluka), se adicionaron con 1 mg/mL de ácido ascórbico (Sigma).

Solución de 1000 mg/L de As (V):  $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (Fluka)

Las soluciones analíticas se prepararon diluyendo las soluciones stock con agua desionizada filtrada al vacío antes del análisis. Se prepararon soluciones de 60-900 ug/L de As (III) y de 100-1000 ug/L de As (V) y se leyeron en el sistema HPLC-EAA-GH para calibrar el sistema. Se calculó la altura del pico para cada estándar y se establecieron las curvas de calibración específicas para cada especie.

##### *Eluyente del HPLC*

Preparar una solución de fosfato de amonio ( $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$ ) 20 mM y metanol al 10%, como la fase móvil y ajustar el pH a 4.16 con ácido fosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) al 3%. Ajustar el flujo de la bomba a 2 mL/min.

##### *Reactivos para el generador de hidruros:*

Para el canal ácido, preparar HCl al 50% y para el canal reductor, una solución de borohidruro de sodio ( $\text{NaBH}_4$ ) al 0.6%, estabilizado en NaOH al 0.5%.

Acoplar el HPLC con una columna de intercambio aniónico SAX-1 al Espectrofotómetro de absorción atómica-Generador de hidruros.

Preparar cada uno de los estándares (60-900 ug/L para As (III) y 100-900 ug/L para As (V)), previo a su introducción en el HPLC. Inyectar cada estándar por triplicado para la calibración del sistema (volumen de muestra: 100 uL). Determinar la respuesta (altura del pico) de cada grupo de estándares para establecer la curva de calibración específica de cada especie.

La señal integrada (mV) se obtuvo con el programa Star, versión 4.0. Los análisis se hicieron por triplicado. Una vez terminada la curva de calibración, proceder a inyectar el blanco y las muestras (por triplicado). El límite de detección del método es de 19 ug/L y 32 ug/L para As (III) y As (V), respectivamente.

## Apéndice Métodos

### II. Determinación de la actividad de las deshidrogenasas en muestras de suelos

La técnica produce cristales intracelulares de idonitrotetrazolio formazán (INTF), el cual se desarrolla a través de dos etapas: de rojo oscuro soluble a cristales color rojo púrpura insoluble. Se ha reportado que la producción de formazanes es óptima entre pH 5.8-8 y su concentración puede determinarse por espectrofotometría-UV a 485 nm (Smith y McFeters, 1997). Se han usado varios solventes para extraer el formazán, como el metanol, dimetilformamida, tetrahidrofurano, de los cuales, se ha reportado que el tetrahidrofurano es el mejor extractante (Friedel *et al.*, 1994; Ping Gong, 1997). El INTF formado se extrae más fácilmente y da una medición más sensible y una mejor reproducibilidad de la actividad de la DHA que el trifeniiformazán.

Para mitigar la influencia de la reacción del suelo sobre la actividad de la DHA, se han conseguido condiciones óptimas usando amortiguadores con valores de pH entre 7.0 y 8.0. En estas investigaciones, el amortiguador TRIS [tris(hidroximetil)-amino-metano] resultó ser el más adecuado, ya sea a una concentración de 0.1M con un pH de 7.6 a 7.9 (Thalman, 1968; Malkomes, 1991; Spothelfer-Magaña y Thalman, 1992) o a una concentración 1.0M y un pH de 7.0 (von Mersi y Schinner, 1991).

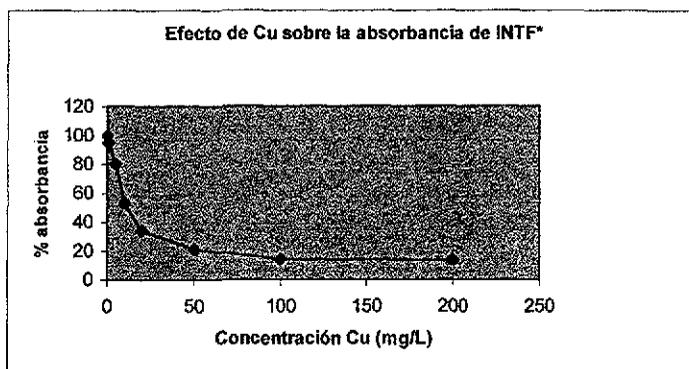
De cualquier manera, aunque se utilice el amortiguador, es conveniente que se realicen ensayos en los que se evalúe la concentración óptima de INT que se va a usar (Friedel *et al.*, 1994)

Por otro lado, Friedel *et al.* (1994) encontró que la reducción, tanto del TTC, como del INT arroja mayores niveles de la actividad de la DHA bajo condiciones anaeróbicas, por lo que modifican el método del TTC y el del INT. Con estas modificaciones, ambos métodos probaron tener alta reproducibilidad (error estándar entre 2 y 6%) y una buena diferenciación de la actividad de la DHA entre los diferentes suelos.

Un factor importante en la actividad de las DHA es el estado de aireación del suelo expresado como  $E_h$ , ya que altera el potencial redox del suelo. Se ha encontrado una correlación negativa entre el potencial redox y la actividad de las DHA, es decir, a menor potencial redox, aumenta la concentración de formazanes (Brzezinska *et al.*, 1998).

Las sales INT y otras sales de tetrazolio son convertidas en formazanes por todos los sistemas reductores que tienen un potencial redox más negativo que el sistema INT/INTF (-90 mV), por lo que en ambientes reductores, en donde el potencial redox es más reductor que el sistema, puede conducir a una reducción no biológica del INT, lo cual, explica la presencia de INTF en material no vivo. Sin embargo, otros estudios sugieren que estas sales de tetrazolio pueden usarse para detectar actividad metabólica de bacterias bajo condiciones anaerobias (Smith y McFeters, 1997; Bhupathiraju *et al.*, 1999)

Algunos investigadores han reportado que el cobre interfiere con la absorbancia de INTF debido a la formación de complejos quelatados entre el  $\text{Cu}^{2+}$  y los formazanes. Obbard (2001), reporta los resultados del estudio de la interferencia causada por el Cu, en el que la concentración de formazanes disminuye drásticamente al aumentar las concentraciones de este metal (Fig. II-1).



**Fig. II-1. Efecto del cobre sobre la inhibición del INTF**

\* La absorbancia se expresa como:  $100 \left[ \frac{\text{absorbancia de INTF en la solución adicionada}}{\text{absorbancia de INTF en la solución control}} \right]$ . Fuente: Datos tomados de Obbard, 2001.

Con respecto a los procesos celulares específicos que se miden a través de esta reacción, se ha reportado que en ensayos para detectar actividad metabólica de bacterias bajo condiciones anaerobias (Friedel *et al.*, 1994) el INT se reduce, especialmente, durante la fermentación de la glucosa. La fermentación de la glucosa por *E. coli* estimula en  $\geq 100\%$  la reducción de sales INT, lo que indica que son las DHAs durante el proceso de fermentación las que reducen al INT (Smith y McFeters, 1997).

En los eucariotes, INT se reduce en la mitocondria por el complejo succinato: ubiquinona óxidoreductasa (SDH) o citocromo  $c_1$ . Se ha sugerido que SDH es un sitio importante en la reducción de INT en los procariotes (Smith y McFeters, 1997). Maurines-Carboneill *et al.* (1998) reporta que el sistema fumarato-succinato detectado en miembros del género *Bacteroides* está conformado por una cadena corta de transporte de electrones y puede ser responsable de la reducción del INT usado en la medición de la actividad.

También se ha reportado que INT se reduce por el NADH de las DHA. La producción de INTF en experimentos con *E. coli* indica que la reducción de INT puede estar mediada por las actividades de SDH- y NADH y, posiblemente, otras DHAs que donan electrones a la cadena de transporte de electrones. Estos resultados son similares a los sitios determinados para la cadena de transporte de electrones mitocondrial en eucariotes. La reducción de INT está ligada al proceso de transporte de electrones que está, a su vez, unida a la actividad de ATPasas (Smith y McFeters, 1997).

#### **Determinación de la actividad de las deshidrogenasas por el método de reducción de cloruro de idonitrotetrazolio (Friedel *et al.*, 1994)**

##### **Material y Reactivos:**

- Baño María
- Ultrasonido
- Tubos de ensaye grandes (de 2 cm de diámetro)
- Tubos de ensaye chicos para diluciones
- Tapones de goma para los tubos
- Agitador para tubos de ensaye
- Pipetas automáticas de 1-5 mL y de 2-10 mL
- Agitador mecánico
- Papel filtro Whatman Núm. 40
- Frascos de vidrio de 250 mL
- Espectrofotómetro UV Varian
- Campana de extracción
- Balanza analítica
- Gas nitrógeno
- acetona

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

- Cloruro de iodonitrotetrazolio (INT)
- Violeta de iodonitrotetrazolio-formazan (INT-formazan)
- Tetrahidrofurano (THF)
- Solución tampón de Tris 0.1M a pH 7.4 (12.114 g de Tris-hidroximetilamino se disuelven en 648 mL de HCl 0.1M ó en 7 mL de HCl concentrado; aforar a 1L con agua destilada. El pH se ajusta a 7.7 ( 2% de carbonatos).
- Solución INT-Tris (la concentración óptima se determina en un preensayo) Rangos aproximados: 18 mg/mL para suelos de texturas finas y 9 mg/mL para suelos de texturas gruesas, se disuelven en la solución de Tris)
- Solución patrón de INTF (disolver 40 mg en 100 mL de THF)

**Procedimiento:**

1. Pesar 2.5 g de suelo tamizado (Tamiz Núm. 10, con abertura de malla de 2 mm) en tubos de ensayo grandes (3 repeticiones por muestra, 2 blancos por tanda).
2. Agregar 2.5 mL de solución INT-Tris.
3. Burbujear N<sub>2</sub> en los tubos
4. Tapar de inmediato los tubos con los tapones de manera que sellen bien.
5. Homogenizar en el agitador de tubos (15")
6. Colocar los tubos en baño María durante 4 horas a 47 °C.
7. Anotar la hora y homogenizar dos veces durante la incubación.
8. Después de la incubación agregar 10 mL de THF a cada tubo
9. Homogenizar con el agitador de tubos (10")
10. Tapar bien los tubos y colocarlos en el agitador mecánico a 270 rpm adentro de una caja para protegerlos de la luz ,durante 2 horas.
11. Filtrar con el papel filtro Whatman abajo de la campana protegiéndolos de la luz a frascos de vidrio. Cuidar que todo el suelo pase a los filtros.
- 12 Retirar los filtros y dejarlos secar abajo de la campana

Determinación de las concentraciones de cloruro de iodonitrotetrazolio formazán (INTF)

1. Diluir todas las muestras con acetona (1 mL de filtrado + 7 mL de acetona) en tubos de ensayo.
2. Leer con el espectrofotómetro a 487 nm contra un blanco de agua destilada.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

3. Curva de calibración:

Sol patrón (mL)	THF (mL)	sol. Tris-INT (mL)	[mg INTF/12.5 mL]
0	10	2.5	0.0
1	9	2.5	0.4
2	8	2.5	0.8
4	6	2.5	1.6
5	5	2.5	2.0
6	4	2.5	2.4

1. Homogenizar y diluir igual que las muestras con acetona (1 mL de solución + 7 mL de acetona) y leer igual que las muestras en el fotómetro.
2. Graficar la curva  $x = \text{absorbancia}$   
 $y = \text{ug INT-formazan/mL}$
3. Calcular:  $(\text{abs. del problema} - \text{abs. blanco}) * \text{factor de calibración} * 50/2.5 = \text{TPF/kg suelo}$

Se realizaron diversos ensayos para la estandarización y determinación de la aplicabilidad del método en las muestras de suelo superficial:

a) *Ensayo para determinar la concentración de cloruro de iodonitrotetrazolio (INT) en el medio de incubación.*

El ensayo se llevó a cabo siguiendo el método propuesto por Friedel *et al.* (1994).

Se hicieron pruebas preliminares para determinar la concentración de INT en el medio de incubación. El suelo que se utilizó para estas pruebas es una muestra que se tomó en el extremo NO del área de estudio para evitar, en lo posible, interferencias por la presencia de cobre, durante la verificación del desempeño del método. Se prepararon soluciones INT-Tris a diferentes concentraciones de INT (Fluka, grado reactivo): 8.06, 10.13, 12.08, 14.16, 16.00 y 18.41 mg INT/mL. Se incubaron la muestras con estas soluciones, se extrajo el INTF y se determinó su concentración por espectroscopia-UV (Varian, modelo Cary3). Los ensayos se hicieron por triplicado.

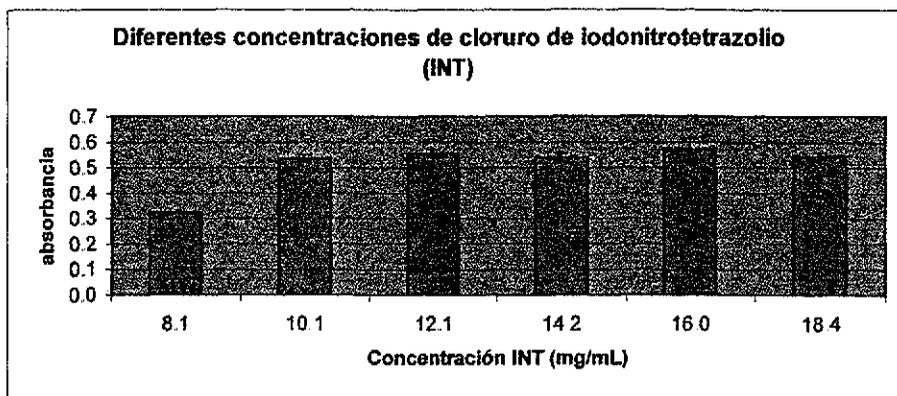
Los resultados del ensayo realizado para determinar la concentración de mg de INT por mL de medio de incubación (solución INT-Tris), adecuada para las condiciones específicas del suelo en estudio, mostraron que las concentraciones por encima de 10.1 mg/mL no reflejan una diferencia significativa entre las absorbancias obtenidas (95% confianza) (Tabla II-1, Fig. II-2). Con base en estos resultados se seleccionó la concentración de 12.1 mg INT/mL.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**Tabla II-1. Valores de absorbancia a  $\lambda=478$  nm con diferentes concentraciones de cloruro de idonitrotetrazolio**

Conc INT* (mg/mL)	Absorbancia prom	Desv. Est.	Int Conf. (95%)
8.1	0.322	0.001	0.00
10.1	0.534	0.009	0.01
12.1	0.554	0.013	0.01
14.2	0.541	0.016	0.02
16.0	0.570	0.037	0.04
18.4	0.544	0.012	0.01

(\*) valores de concentración seleccionados con base en la recomendación del método de Friedel, *et al* (1994): 9 mg/mL para suelos de texturas gruesas a 18 mg/mL para suelos de texturas finas.



**Fig. II-2 Comparación entre los valores de absorbancia a  $\lambda=478$  nm obtenidos con diferentes concentraciones de INT**

Durante la estandarización del método, se establecieron las siguientes medidas:

- ❖ Las sales de INT no son solubles en agua, por lo que la suspensión INT-Tris debe mantenerse en agitación constante para obtener alícuotas homogéneas.
- ❖ El INT es sensible a la luz (aunque mucho menos que el TTC), por lo que es necesario cubrir los tubos de ensayo con plástico grueso negro, y trabajar bajo la luz de una lámpara de seguridad, dentro de una campana de extracción aislada de la luz solar, por ejemplo con una cortina ahumada.

TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN

- ❖ Dado que el tetrahidrofurano (THF) que se usa para la extracción de INTF se evapora con facilidad, deben tomarse precauciones para evitar pérdidas; como mantener los tubos tapados el mayor tiempo posible, filtrar rápidamente y aforar con acetona asegurándose que todos los tubos presenten el mismo volumen final. También es recomendable mantener los tubos en frío

*b) Actividad de las DHA en muestras adicionadas con sales de As*

Para verificar si hay cambios en la actividad de la DHA (concentración de INTF) en función de la concentración del As soluble, se prepararon suelos con adiciones de diferentes concentraciones de este elemento. Para lo cual, se adicionaron sales de As (III) y As(V) en concentraciones de 1, 5 y 7 mg/kg (por duplicado) en una muestra de suelo dividida intralaboratorio y se identificaron cualitativamente las especies solubles mediante HPLC-EAA-GH, después de tres días de estabilización. En ambos lotes en la fase soluble, únicamente se detectó la señal de As (V), por lo que se utilizó arseniato de sodio para los ensayos con muestras adicionadas con As.

Se realizaron adiciones de 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 mg/kg de As (V) a una muestra de suelo colectada en el límite NO del área de estudio, dividida intralaboratorio. Las muestras se dejaron estabilizar durante tres días a temperatura ambiente. Posteriormente, por cada nivel de concentración se separaron seis submuestras, tres de las cuales, se pesaron e incubaron y se les determinó la actividad de la DHA (ug/g INTF 4h). A las otras tres submuestras se les midió la concentración de As en solución.

En la Tabla II-2 se presentan los resultados de la actividad de las DHA(ug/g.h INTF) y las concentraciones de As soluble obtenidas en las muestras de suelo adicionadas con As (V), después de tres días de la adición. Las concentraciones de As soluble se graficaron vs. la actividad de las DHA (Fig. II-3). Se calculó un coeficiente de correlación de 0.90 entre la concentración de As soluble y la actividad de la DHA.

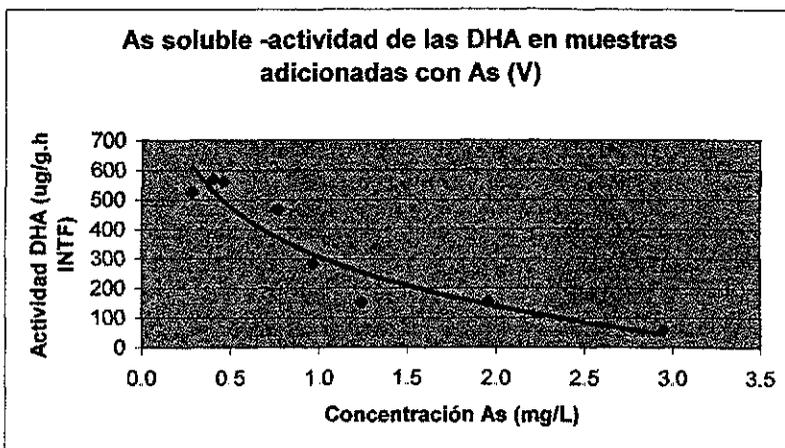
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**Tabla II-2. Actividad de las DHA en muestras de suelo adicionadas con As(V)**

Adición	As soluble (mg/kg)		Actividad de las DHA (µg/g.h INTF)		
	As (V) (mg/kg)	Promedio	%CV	Promedio	%CV
0		0.29	2.55	524.80	7.80
1		0.40	8.48	568.40	12.20
2		0.45	9.99	559.53	5.90
3		0.77	9.44	467.50	10.80
4		0.97	6.42	283.53	20.00
5		1.24	6.79	152.05	11.10
6		1.96	15.98	154.88	16.90
7		2.95	13.07	57.68	14.00

\* IC: intervalo de confianza;

\* %CV: porcentaje del coeficiente de variación



**Fig. II-3. Relación de la concentración de As soluble y la actividad de las DHA en muestras de suelo adicionadas con As (V)**

Los resultados indican que bajo condiciones controladas hay una disminución de la actividad de las DHA cuando aumenta la concentración soluble de As (V). Sin embargo, esta interpretación debe considerar las siguientes limitaciones: a) la posibilidad de que ocurran reacciones abióticas de reducción del As (V) a As (III), que compitan con la reducción del NAD<sup>+</sup>, b) los arseniatos de sodio utilizados en el laboratorio son más solubles que los

minerales de As presentes en los suelos de zonas mineras, por lo que los resultados del experimento simulan una situación aguda y no representan lo que sucede en campo, donde los microorganismos están sujetos a una exposición crónica y c) los suelos de la zona de estudio contienen otros elementos potencialmente tóxicos, que pueden causar otros efectos en los microorganismos, situación que no se incluye en los experimentos de laboratorio.

*c) Interferencia del Cu en el uso de la técnica*

Se ha reportado que el  $\text{Cu}^{2+}$  interfiere con la determinación de la actividad de las DHA con TTC e INT, pues forma compuestos de coordinación con los formazanes. Obbard (2001) realizó un experimento en donde adicionó agua desionizada (control) y diferentes concentraciones de sulfato de Cu, Zn, Ni y Cd (0, 1, 5, 10, 20, 50, 100 y 200 mg/L) a soluciones de INTF y las incubó. No se encontraron diferencias significativas entre la muestra control y las adicionadas con Zn, Cd y Ni, pero si se identificaron interferencias en las muestras adicionadas con sulfato de Cu. Adiciones de 1, 5, 10, 20, 50 mg/L de Cu produce una disminución de 5, 20.1, 46.9, 65.8, 79 % de la respuesta de INTF con respecto al control.

Para verificar la posible interferencia de iones de Cu en la aplicación del método a muestras colectadas en zonas mineras, que normalmente presentan concentraciones totales altas de este metal, se procedió a determinar las concentraciones de Cu en extractos de suelo filtrados (0.45 $\mu\text{m}$ ), utilizando el método de Friedel *et al.* (1994). En la Tabla II-3 se presentan las concentraciones de Cu extraíble con este método en las muestras de suelo (1.5-11.5 cm) que contenían concentraciones mayores al límite de detección.

**Tabla II-3. Actividad de las DHA en muestras de suelo del área de estudio (1.5-11.5 cm) y su contenido de Cu.**

Muestra	Actividad de las DHA (ug/g.h)	Cu (mg/kg)
1	70.5	1.25
2	112.8	1.32
3	203.2	0.67
19	70.5	1.36
20	140.9	2.02
21	153.5	0.22
22	97.5	1.44
32	35.9	0.51
33	100.3	1.22

Los resultados indican que solamente 9 muestras de 33 contienen  $\text{Cu}^{2+}$  en solución en concentraciones mayores al límite de detección y que el valor más grande es de 2.02 mg/kg es menor al límite de cuantificación del método (2.5 mg/kg), lo que produciría una disminución menor del 5% en la respuesta del INTF. El coeficiente de correlación Cu-actividad de las DHA es de  $-0.09$ .

#### d) Tratamiento con formaldehído

Con este ensayo no es posible diferenciar una reducción abiótica de una biótica, por lo que se procedió a realizar otras pruebas, para lo cual, se eligieron 12 muestras de suelo (6 de la zona norte y 6 de la zona poniente), de las cuales, 5 muestras presentaron concentraciones detectables de As (III). Las muestras se trataron con formaldehído para eliminar las células microbianas, con el fin de evitar la reducción biótica. En la Tabla 3-13 se muestran los resultados del experimento. Se puede observar que las muestras que contienen sólo As (V), (muestras 10, 11, 12, 21, 22, 24, 32) presentaron concentraciones de INTF por debajo del límite de detección del método; mientras que las muestras con As (III) (muestras 1, 2, 18, 27 y 28) presentaron una respuesta mayor. Estos resultados indican que, bajo condiciones reductoras (humedad y bajo nivel de  $\text{O}_2$ ), el método tiene sus limitaciones, ya que la respuesta es la suma de la reducción de INT por los microorganismos y por el componente reductor presente en el suelo, como es el caso reportado aquí con las muestras que presentaron concentraciones detectables de As (III); es por ello que el método no es aplicable en ambientes reductores con un potencial redox igual o menor que el del INT-INTF.

También tendría que considerarse la posibilidad que cierta parte de esa respuesta pueda ser por microorganismos que hayan soportado el tratamiento con formaldehído.

#### Otras consideraciones acerca del método

Al llevarse a cabo los ensayos en un ambiente reductor, el As (V) pudiera competir con el aceptor de electrones artificial (INT) por los electrones donados por los microorganismos reduciéndose a As (III) evitando o reduciendo la formación de INTF.

Sin embargo, está última aseveración presenta limitaciones cinéticas, ya que se ha reportado que en suelos incubados bajo condiciones anaerobias<sup>18</sup> con concentraciones de 126-250 mg/kg de As (V), después de 5 días de tratamiento, se registraban únicamente 0.25 mg/kg de As (III) (Turpeinen *et al.*, 1999). Masscheleyn *et al.* (1991) reporta también que la cinética de

<sup>18</sup> pH  $\approx$  5, Materia orgánica: 2.6-3.9 %C

transformación de As (V) a As (III) es lenta; Rochette *et al.* (1998) en experimentos con suelos inundados adicionados con As (V) no reporta la presencia de As (III) sino hasta después de siete días de inundación. Además, a partir de las predicciones termodinámicas (Bowell, 1994), se calcula que el arsenito predomina en suelos aerobios a  $\text{pH} < 4.5$  y en anaerobios, a  $\text{pH} < 7$ ; en estos ensayos se usó un amortiguador a un  $\text{pH}$  de 7.7, por lo que puede ser que la reducción, no sea tan rápida. De cualquier manera sería conveniente realizar unos ensayos en este sentido.

## Apéndice Métodos

### III. Análisis Geoestadístico

Parte de los resultados de este trabajo de investigación fueron publicados en la *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, Vol. 16, No. 4, pp 205-214, bajo el título: "La geoestadística como una herramienta en estudios de contaminación de suelos. Estudio de caso: Afectación de suelos por As, Cd y Pb contenidos en jales mineros" del cual, se toman algunas ideas.

Cuando se quiere determinar el alcance de la contaminación, es decir, hasta dónde y en qué cantidades se encuentran los contaminantes en el suelo, una técnica muy eficaz es la construcción de mapas mediante técnicas geoestadísticas, en los que se identifica gráficamente la distribución espacial del contaminante en un momento dado; esto permite a la vez, verificar las fuentes de origen (FOEFL, 1996).

La geoestadística permite modelar la variación espacial y estimar valores en posiciones no muestreadas, estimar valores promedio correspondientes a volúmenes o áreas definidos; o estimar la proporción de una región donde los niveles de concentración sobrepasan un valor límite (Myers, 1991)

Para obtener una imagen completa de la distribución espacial de un contaminante en el suelo de una región definida, la etapa de muestreo es crucial, éste debe de comprender un alto número de unidades de muestreo georreferenciados para representar adecuadamente el patrón de variación espacial, lo que permitirá una mejor estimación del variograma (Stein y Staritsky, 1995)

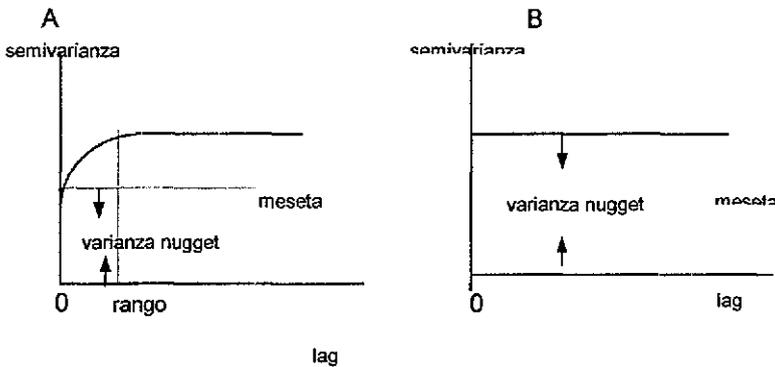
El variograma se usa frecuentemente para describir cómo varía una propiedad del suelo sobre la superficie del terreno. Es la función que expresa matemáticamente el modo en que la semivarianza de una propiedad cambia al variar la distancia y dirección de separación entre dos puntos, o sea, el "lag" ( $h$ ). Por ello, la posición de las muestras involucra información valiosa cuando existe o se intuye una correlación espacial cuantificable en términos del  $h$  (Webster, 1994).

Al ir cambiando el valor de  $h$  se obtiene una serie de valores que constituyen la muestra para construir el variograma experimental, y éste se emplea para determinar el variograma teórico ( $\gamma$ ). El variograma teórico es un modelo ajustado que se requiere para obtener los parámetros que serán usados posteriormente en la interpolación o kriging.

Para construir el variograma teórico se le pueden ajustar modelos paramétricos por diferentes métodos; normalmente se usa el de la suma de cuadrados ponderados. El procedimiento de mínimos cuadrados ponderados siempre da buenos resultados (Cressie, 1989).

Existen también, opciones de modelos para el ajuste, éstos deberán ser modelos matemáticos autorizados, lo que quiere decir que son funciones que aseguran que no se obtendrán varianzas negativas, algunos ejemplos son el modelo lineal, el esférico y el exponencial.

Uno de los modelos más empleados en geoestadística es el esférico que se caracteriza por que alcanza la meseta a una distancia finita, es indicativo de fenómenos con pocas discontinuidades, así mismo este modelo presenta un comportamiento lineal en el origen (Samper, 1990).



**Figura III-1. Ejemplos de variogramas**

Una vez ajustado el modelo, se pueden identificar varias características (Fig. III-1 A); la semivarianza alcanza un máximo llamado meseta o umbral (sill). La semivarianza se incrementa conforme aumenta el lag hasta estabilizarse a una distancia-lag finita llamada rango o alcance (range) que marca el límite de la correlación espacial. El variograma alcanza una meseta si el proceso es estacionario. Muchas veces, el variograma presenta una intersección positiva con las ordenadas, lo que corresponde a la variación aleatoria y se denomina varianza de pepita ("nugget").

A veces el variograma se presenta en forma tan sólo de "nugget" (Fig. III-1 B), lo que significa que no hay correlación espacial en los datos y pueden ser tratados por métodos de la estadística clásica (Zhang, 1995). Sin embargo, muchas veces, el obtener un variograma de este tipo, refleja un problema, que estriba en que la espaciación del muestreo no fue la apropiada (fue demasiado grande y no captó la variación espacial).

Las propiedades de la superficie del suelo varían en dos dimensiones, en el caso de que la variación sea igual en cualquier dirección, se le denomina isotropía. Si la variación es diferente al variar la dirección, a esto se le llama anisotropía. Para la detección de anisotropía, es necesario calcular el variograma en varias direcciones, y observar si son marcadamente distintos.

El **kriging** es un modelo de regresión usado con datos irregularmente espaciados en coordenadas de 1-2-ó 3 dimensiones para la estimación de valores en posiciones no muestreadas (kriging puntual) o para la estimación de un promedio espacial relativo a una longitud, área o volumen definidos (kriging de bloques).

Se construye como una función lineal de los datos y los pesos se obtienen de un sistema de ecuaciones lineales en los que los coeficientes son los valores del variograma o de funciones de correlación, que cuantifican la correlación entre los datos de dos posiciones de muestreo o entre una posición de muestreo y la posición a ser estimada.

En estudios de suelos, el "kriging" se ha utilizado principalmente para interpolación y mapeo. La propiedad en cuestión se estima para las intersecciones de una cuadrícula fina y los cambios pueden ilustrarse mediante isolíneas o sombreados. Las varianzas pueden, a su vez, mapearse y constituyen guías para la confiabilidad de las estimaciones. En este caso, el mapa mostrará si hay partes de la región en las que debiera incrementarse el muestreo.

Hay varios métodos para llevar a cabo el kriging y su selección dependerá de los objetivos particulares. El kriging ordinario es el que se usa más frecuentemente.

### **Análisis geoestadístico**

Dado que se tenía establecida la fuente de aporte de contaminantes al suelo, se procedió a determinar su alcance. Para lo cual se recurrió a la construcción de mapas mediante técnicas geoestadísticas, para, a la vez, verificar las fuentes de origen y establecer la magnitud de las áreas que están afectadas conforme a límites preestablecidos

Se empleó el programa GEO-EAS de dominio público y el programa VARIOWIN (1996)

Los procedimientos geoestadísticos se ejemplifican con el caso del As total, en tanto que, los resultados para Cd y Pb se presentan en forma del producto final (mapa de isolíneas).

La estrategia general incluyó:

Análisis exploratorio estadístico de los datos

En el cual se establecieron los valores estadísticos descriptivos tales como media, desviaciones, número total de observaciones e histograma.

Estimación y modelado de la función que cuantifica la correlación espacial

Se estimó el variograma experimental a partir de los datos observados y se ajustó el mejor modelo teórico a través del método de mínimos cuadrados ponderados.

Uso de la función de correlación espacial para determinar la serie de ecuaciones lineales que determinan los pesos del estimador de kriging.

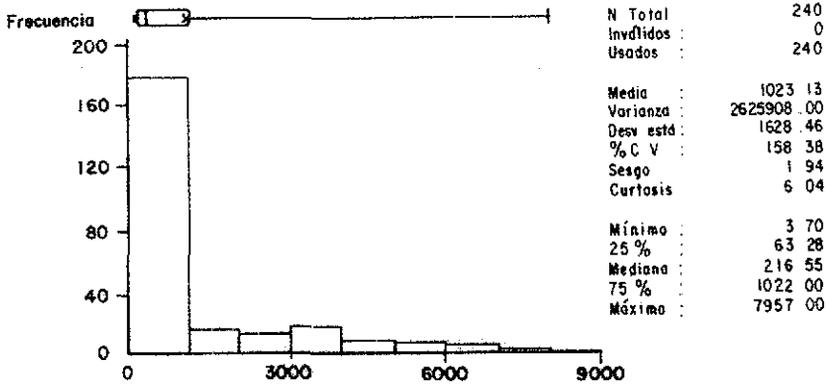
Con los parámetros determinados del variograma teórico, se calcularon los valores del kriging para llevar a cabo la interpolación.

Generación de valores estimados y las estimaciones de desviaciones estándar (minimizadas) asociadas.

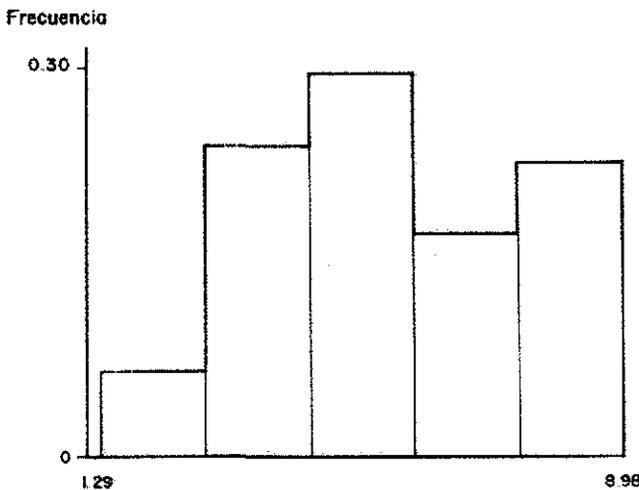
Se generaron los mapas de isolíneas particulares para cada elemento analizado y del error de kriging.

Análisis exploratorio estadístico de los datos

Considerando que el histograma resultó muy sesgado (Fig. III-2) y que los parámetros geoestadísticos son sensibles a la presencia de puntos aberrantes, se practicó una transformación log-normal a los datos con lo que se logró mejorar la distribución (Fig. III-3).



**Figura III-2. Histograma de los datos originales de las concentraciones de As**



**Figura III-3. Histograma del logaritmo de las concentraciones de As**

Los cálculos subsiguientes fueron efectuados sobre estos valores

**Estimación y modelado de la función que cuantifica la correlación espacial**

Los valores determinados de las concentraciones de As y Pb en cada una de las unidades de muestreo sirvieron de base para la construcción del variograma experimental. Este expresa matemáticamente el modo en que la semivarianza de estas propiedades cambia al variar la distancia y dirección que separan dos puntos de muestreo, asumiendo que existe una correlación espacial

Al variograma experimental (estimador) se le ajustó un modelo para obtener el variograma teórico, que en el caso de los elementos determinados correspondió a un modelo esférico. Se validó por medio del error cuadrático medio y otras medidas de diagnóstico incluidas en el programa.

Una vez ajustado el modelo, se identificaron sus características (caso del arsénico); la máxima semivarianza se obtuvo a un valor de 4.1. La semivarianza se incrementa conforme aumenta el lag hasta estabilizarse a una distancia o rango de 2 km lo que indica que el proceso es estacionario y que el intervalo de variación espacial quedó comprendido dentro del intervalo elegido de separación de muestras (250m). El rango marca el límite de la correlación espacial dentro del área estudiada. La intersección positiva con las ordenadas, correspondiente a la variación aleatoria o nugget fue eliminada mediante una estandarización del variograma (Figura III-4). El modelo se ajusta bastante bien hasta una distancia de 1km (1/2 del rango) distancia que se utilizó para fijar el tamaño de ventana de la vecindad móvil.

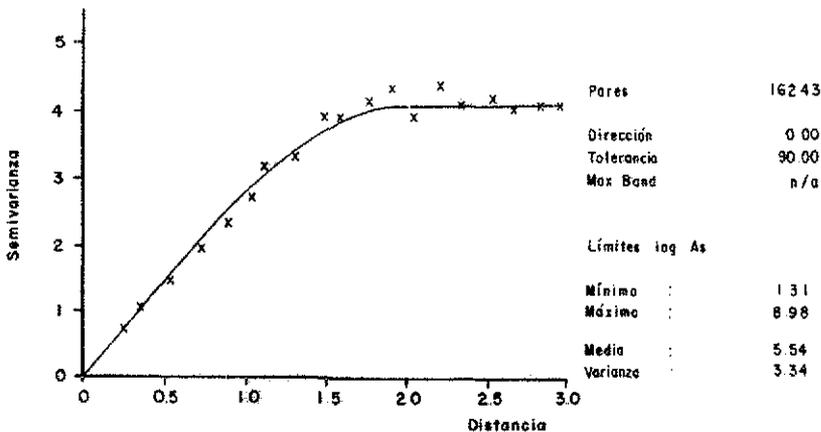
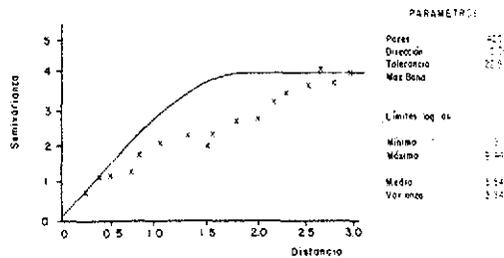


Fig. III-4. Variograma omnidireccional para log As

Dado que el objetivo de este trabajo era el de evaluar un área de afectación, y las propiedades de la superficie del suelo varían en dos dimensiones, se procedió a identificar la presencia de anisotropía en la distribución espacial de estos elementos, para lo cual, se calcularon variogramas a diferentes direcciones (Fig. III-5) observándose que manteniendo el modelo esférico fijo, los datos experimentales pierden el ajuste al cambiar la dirección, por lo que existe cierto grado de anisotropía; sin embargo, mediante el empleo de un variograma omnidireccional la precisión obtenida se juzgó suficiente (Fig. III-4).

TESIS CON FALLA DE ORIGEN



**Figura III-5. Variograma direccional para log As**

Con los parámetros obtenidos al ajustar el variograma teórico se procedió a aplicar la técnica de kriging ordinario para llevar a cabo la interpolación de los datos. La precisión kriging se obtuvo por el método de validación cruzada. La menor precisión se restringe a las isolíneas colindantes con la presa de jales, debido a la ausencia de puntos de muestreo practicables en esta zona (frontera con la presa de jales). La distribución espacial de As y Pb, producto del kriging, se representaron como diagramas de isolíneas (Figs. 3-4 y 3-5 en la sección de Resultados y Discusión), obteniéndose una distribución típica para cada uno de ellos.

A través del análisis geoestadístico se pudo constatar que la distribución de las concentraciones de As y Pb observaron un patrón general de comportamiento similar al interior del área estudiada lo que justifica su uso como trazadores de contaminación por jales. La distribución de las isolíneas muestra un patrón concéntrico alrededor de la presa de jales con isolíneas de máxima concentración en las proximidades de la presa e isolíneas aledañas con concentraciones paulatinamente menores. Lo que confirma que la fuente de contaminación es la presa de jales.

Se determinó una ruta de dispersión en sentido SO-NE que fue identificada en los mapas de isolíneas de concentración; además se observó que la distancia entre éstas es muy corta, particularmente al NE, en comparación con la observada en otras direcciones lo que indica un proceso de corto alcance pero muy intenso. Se pudo evidenciar la presencia de otra ruta de dispersión en sentido E-W que no se tenía contemplada en un principio, que a diferencia de la anterior, la distancia entre las isolíneas de concentración es mayor y rebasan incluso el área de muestreo. Lo anterior denota un proceso de largo alcance y de menor intensidad que el observado en dirección SO-NE. Considerando que el poblado está en el extremo SW de la

presa de jales, no se puede afirmar que se encuentre totalmente protegido de las influencias de los polvos, lo que requerirá de estudios más específicos.

**RESULTADOS**

Tabla A. Valores promedio de pH y desviación estándar en suelos superficiales

Fila	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	
21	7.0 0.05	6.3 0.02	5.9 0.01	6.5 0.01	6.6 0.03	6.4 0.04	5.3 0.02	7.0 0.01	7.0 0.15	7.0 0.03	5.8 0.08	5.9 0.04	6.6 0.03	6.1 0.00	5.9 0.10	
20	7.6 0.08	6.8 0.03	5.7 0.03	5.7 0.05	5.8 0.01	6.4 0.04	5.7 0.06	7.1 0.01	6.3 0.01	6.1 0.08	6.1 0.01	6.4 0.04	5.285 0.05	7.3 0.04	6.6 0.03	
19	7.2 0.03	7.7 0.02	6.9 0.02	6.6 0.01	6.8 0.03	5.5 0.03	6.7 0.07	7.7 0.03	6.7 0.01	6.5 0.05	6.4 0.11	6.5 0.16	6.4 0.09	6.1 0.14	6.3 0.19	
18	6.0 0.19	6.6 0.09	7.4 0.05	5.7 0.00	6.8 0.01	5.4 0.05	4.3 0.04	5.9 0.04	5.2 0.02	5.0 0.02	5.3 0.02	5.4 0.01	6.3 0.09	5.8 0.04	7.3 0.02	
17	5.4 0.02	6.2 0.00	7.4 0.03	5.3 0.00	5.6 0.08	5.7 0.02	6.0 0.00	5.7 0.05	5.8 0.07	3.5 0.01	5.6 0.03	5.2 0.05	5.1 0.06	6.2 0.05	4.7 0.02	
16	6.8 0.01	4.9 0.09	6.7 0.04	5.9 0.01	4.8 0.04	8.1 0.05	7.4 0.04	6.4 0.02	6.5 0.08	5.8 0.06	4.6 0.00	6.6 0.03	5.1 0.10	4.3 0.02	5.4 0.04	
15	6.3 0.01	5.7 0.04	6.5 0.09	6.8 0.10	6.7 0.02	6.4 0.04	6.9 0.02	5.2 0.02	5.0 0.00	2.6 0.00	6.1 0.02	4.6 0.03	6.0 0.14	6.6 0.03	7.0 0.06	
14	7.7 0.01	7.2 0.05	6.5 0.01	6.9 0.06	7.1 0.00	7.5 0.00	7.4 0.00	8.0 0.09	o	o	o	o	6.3 0.07	6.7 0.02	6.5 0.00	
13	6.6 0.06	6.7 0.00	6.8 0.11	6.3 0.07	6.7 0.14	7.0 0.03	8.8 0.02	o	o	o	o	o	7.2 0.01	7.2 0.02	6.3 0.08	
12	6.3 0.04	6.8 0.11	7.1 0.07	6.7 0.05	6.6 0.08	6.9 0.00	o	o	o	o	o	o	7.3 0.04	7.1 0.04	6.6 0.00	
11	6.9 0.14	7.1 0.04	5.9 0.03	7.0 0.02	7.4 0.01	7.2 0.01	o	o	o	o	o	o	7.2 0.13	7.2 0.06	6.8 0.02	
10	6.7 0.03	7.1 0.04	7.2 0.04	6.8 0.04	6.6 0.01	o	o	Presa de jales					o	7.2 0.00	7.1 0.07	6.3 0.00
9	7.1 0.06	7.3 0.01	7.1 0.07	6.9 0.06	7.2 0.03	← Valor promedio	o	o	o	o	o	o	o	7.3 0.01	7.3 0.01	6.5 0.01
8	7.3 0.02	6.8 0.07	6.9 0.13	6.9 0.02	7.2 0.13	← Desviación estándar	o	o	o	o	o	o	o	7.1 0.09	6.5 0.02	
7	7.4 0.09	7.4 0.07	7.3 0.01	7.1 0.01	7.3 0.16	o	o	o	o	o	o	o	6.8 0.10	5.9 0.05		
6	7.5 0.02	7.5 0.00	7.0 0.02	6.8 0.06	7.1 0.00	7.2 0.01	o	o	o	o	o	o	7.1 0.04	6.7 0.07		
5	6.6 0.03	6.3 0.03	7.3 0.00	7.1 0.02	6.9 0.01	7.1 0.05	7.2 0.03	o	o	o	o	o	6.8 0.11	7.0 0.07		
4	7.1 0.01	7.0 0.03	6.4 0.07	6.8 0.01	7.6 0.03	7.4 0.03	7.3 0.08	7.3 0.06	o	o	o	o	7.2 0.07	6.9 0.08		
3	5.8 0.01	5.9 0.02	7.2 0.03	7.3 0.03	7.3 0.17	7.1 0.00	7.2 0.10	7.4 0.01	7.3 0.01	7.3 0.02	7.3 0.04	6.6 0.09	6.5 0.01			
2	5.7 0.10	6.5 0.01	5.9 0.08	7.3 0.02	7.4 0.02	7.1 0.06	6.9 0.01	6.9 0.00	7.1 0.06	6.7 0.06	6.1 0.04	5.8 0.03	6.7 0.02			
1	7.1 0.02	7.2 0.08	6.9 0.05	7.4 0.03	7.6 0.04	6.7 0.11	7.0 0.01	7.0 0.09	7.3 0.15	6.9 0.01	7.1 0.02	6.4 0.02	6.0 0.05			

o Presa de jales

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Tabla B. Caracterización de perfiles de suelo

Perfiles Prof. (cm)	pH		C.E.mhos/cm		%C		% arcilla	Clase textural del suelo	Cationes Intercambiables							
	Promedio	Desv. Est.	Promedio	Desv. Est.	Promedio	Desv. Est.			Na	Mg	K	Ca	Cl	CIC		
<b>2G</b>																
0-1.5	7.4	0.05	0.21	0.008	4.100	0.700	2.3	arenoso y franco-arenoso	0.30	1.03	1.30	11.47	14.11	11.34		
0-4	8.1	0.04	0.15	0.002	3.000	0.000	9.8	franco arenoso	0.23	0.83	1.25	11.51	13.82	12.12		
4-21	8.1	0.01	0.17	0.012	2.900	0.000	12.8	franco arenoso	0.64	0.97	0.94	16.76	19.30	17.12		
<b>5I</b>																
0-1.5	7.6	0.02	0.15	0.003	4.6	0.283	15.6	franco	0.39	1.16	2.20	23.33	27.08	23.35		
0-10	7.9	0.02	0.14	0.000	3.7	0.141	16.4	franco	0.54	1.24	2.09	28.69	32.56	22.52		
10-20	7.9	0.03	0.28	0.007	4.9	0.424	20.4	franco	1.55	1.62	2.44	38.20	43.81	32.06		
20-33	7.6	0.04	0.89	0.033	5.4	0.000	25.6	franco arcillo arenoso	2.47	2.15	2.23	42.61	49.46	26.90		
<b>8B</b>																
0-1.5	7.3	0.01	0.39	0.047	2.7	0.14	69	franco arenoso	0.57	0.89	1.09	11.37	13.93	10.54		
0-10	8.0	0.04	0.272	0.04	3.8	0.00	80	franco arenoso	0.44	1.58	1.00	18.71	21.73	15.72		
10-25	8.1	0.00	0.299	0.012	3.0	0.26	53	franco arenoso	0.80	1.06	1.00	25.40	28.26	23.25		
<b>16E</b>																
0-1.5	6.9	0.08	0.24	0.027	5.1	0.141	4.5	franco arenoso - areno franco	0.01	0.96	1.00	12.25	14.22	11.97		
0-10	6.8	0.08	0.06	0.006	2.7	0.141	15.6	franco	0.50	1.30	1.05	14.34	17.19	17.73		
<b>16I</b>																
0-1.5	5.2	0.13	2.24	0.007	2.6	0.283	0.5	franco arenoso	0.22	0.55	0.24	10.66	11.88	7.57		
0-2	4.7	0.01	0.38	0.008	1.9	0.141	8.0	franco arenoso	0.26	0.43	0.18	4.55	5.42	9.00		
2-14	6.8	0.03	1.60	0.010	3.6	0.141	16.0	franco	0.81	1.16	1.51	26.07	28.67	21.70		
<b>18D</b>																
0-1.5	8.0	0.01	0.18	0.014	10.5	0.424	8.0	franco arenoso	0.38	1.92	1.59	13.27	17.16	19.01		
0-9	6.6	0.04	0.05	0.003	2.1	0.141	14.1	franco arenoso	0.09	1.26	1.44	5.60	8.39	10.77		
9-40	7.1	0.01	0.13	0.001	2.9	0.424	21.0	franco arcillo arenoso	0.88	1.64	1.57	6.69	10.78	12.97		
40	8.0	0.03	0.35	0.002	4.3	0.141	53.4	arcilloso	4.68	5.61	6.64	20.23	37.16	39.82		
<b>19K</b>																
0-1.5	6.2	0.05	0.06	0.002	2.6	0.141	12.0	franco arenoso	0.07	0.93	0.52	5.53	7.06	8.55		
0-10	6.1	0.11	0.05	0.001	1.7	0.141	14.9	franco arenoso	0.12	0.94	0.74	5.13	6.93	8.84		
10-31	6.8	0.03	0.17	0.015	1.9	0.141	18.6	franco arenoso	0.63	1.36	0.57	9.04	11.51	12.92		
31-37	8.2	0.02	0.31	0.001	1.8	0.141	21.6	franco arcillo arenoso	0.68	2.19	1.56	14.31	18.73	20.33		
<b>20B</b>																
0-1.5	7.2	0.00	0.27	0.040	3.5	0.141	13.8	franco arenoso	0.05	1.92	2.66	11.50	16.13	13.92		
0-6	7.3	0.04	0.18	0.012	4.9	0.141	19.8	franco	0.12	2.51	2.83	15.43	20.90	18.88		
6-10.5	8.0	0.02	0.25	0.001	3.8	0.000	25.0	franco	0.21	4.43	4.86	15.23	24.73	20.97		
10.5-15	8.1	0.01	0.38	0.003	4.5	0.141	25.5	franco y franco-francoarcilloso	0.33	4.93	5.84	18.13	29.23	22.07		
15-16.5	7.6	0.02	0.32	0.005	4.2	0.283	25.5	franco y franco-franco arcilloso	0.52	3.71	5.37	13.37	22.97	19.66		
16.5-38	7.5	0.07	0.57	0.017	4.6	0.283	29.0	franco arcilloso	0.81	3.92	3.31	14.77	22.81	20.78		

**TESIS CON  
FALTA DE ORIGEN**

Tabla C. Conductividad eléctrica en suelos superficiales (mS/cm)

Fila	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	
21	0.53 0.011	0.14 0.031	0.15 0.012	0.14 0.014	0.06 0.009	0.06 0.009	0.11 0.003	0.30 0.003	0.42 0.014	0.40 0.027	0.08 0.002	0.05 0.001	0.34 0.028	0.59 0.108	0.83 0.077	
20	0.17 0.004	0.11 0.013	0.09 0.011	0.10 0.023	0.12 0.007	0.31 0.036	0.29 0.018	0.26 0.006	0.34 0.016	0.08 0.016	0.13 0.019	0.15 0.021	0.10 0.005	0.86 0.073	0.78 0.018	
19	0.21 0.010	0.18 0.010	0.29 0.007	0.07 0.001	0.05 0.005	0.12 0.001	0.48 0.007	0.13 0.005	0.05 0.013	0.04 0.001	0.08 0.001	0.06 0.003	0.06 0.001	1.38 0.116	1.41 0.032	
18	0.06 0.001	0.07 0.005	0.03 0.001	0.18 0.019	0.31 0.014	0.15 0.016	0.03 0.002	0.20 0.022	0.04 0.001	0.04 0.002	0.06 0.002	0.09 0.005	0.08 0.006	1.27 0.065	0.28 0.063	
17	0.11 0.017	0.17 0.009	0.16 0.004	0.17 0.028	0.13 0.004	0.22 0.010	0.30 0.067	0.15 0.007	0.22 0.013	0.83 0.004	0.76 0.005	0.30 0.017	0.09 0.001	1.17 0.122	0.24 0.023	
16	0.15 0.026	0.04 0.002	0.11 0.006	0.09 0.025	0.14 0.008	0.13 0.004	0.46 0.095	0.20 0.019	0.51 0.017	0.71 0.011	0.87 0.014	0.81 0.036	0.55 0.010	0.35 0.022	0.32 0.016	
15	0.09 0.003	0.04 0.005	0.14 0.001	0.18 0.012	0.24 0.037	0.34 0.002	0.20 0.010	1.14 0.024	2.24 0.010	0.77 0.003	1.53 0.029	0.80 0.037	0.88 0.001	1.24 0.096	0.44 0.008	
14	0.53 0.067	0.18 0.001	0.12 0.003	0.53 0.034	0.82 0.028	0.38 0.002	0.42 0.023	18.62 0.725	o	o	o	o	0.19 0.005	0.45 0.138	0.50 0.068	
13	0.17 0.092	0.44 0.037	0.59 0.019	0.63 0.001	0.46 0.018	0.37 0.026	2.85 0.020	o	o	o	o	o	0.28 0.024	1.10 0.049	0.80 0.001	
12	0.42 0.096	0.46 0.024	0.19 0.017	0.26 0.015	7.86 0.000	13.81 0.686	o	o	o	o	o	o	0.25 0.008	0.73 0.006	0.51 0.059	
11	0.36 0.028	0.33 0.012	0.67 0.001	0.33 0.017	0.27 0.001	o	o	Presencia de jales					o	0.31 0.004	0.63 0.006	0.48 0.042
10	0.63 0.003	0.45 0.013	0.34 0.019	0.61 0.017	0.56 0.034	o	o	o	o	o	o	o	o	0.32 0.026	0.56 0.024	0.40 0.048
9	0.59 0.037	0.39 0.066	0.54 0.071	0.63 0.018	0.49 0.094	o	o	o	o	o	o	o	o	0.22 0.004	0.46 0.002	0.32 0.020
8	0.50 0.034	0.70 0.064	0.50 0.032	0.44 0.033	0.36 0.006	o	o	o	o	o	o	o	o	0.30 0.028	0.15 0.002	
7	0.53 0.017	0.34 0.013	0.39 0.080	0.42 0.052	0.73 0.047	o	o	o	o	o	o	o	o	0.19 0.007	0.34 0.024	
6	0.19 0.006	0.19 0.005	0.40 0.026	0.88 0.052	0.41 0.019	0.59 0.002	o	o	o	o	o	o	o	0.26 0.053	0.48 0.006	
5	0.08 0.007	0.12 0.014	0.38 0.014	0.63 0.007	0.52 0.092	0.51 0.065	0.42 0.006	o	o	o	o	o	o	0.14 0.001	0.42 0.035	
4	0.11 0.018	0.25 0.011	0.29 0.038	0.38 0.013	0.23 0.021	0.23 0.026	0.16 0.001	0.19 0.018	o	o	o	o	o	0.14 0.000	0.44 0.054	
3	0.19 0.020	0.24 0.040	0.28 0.001	0.23 0.007	0.29 0.006	0.34 0.043	0.29 0.001	0.12 0.006	0.15 0.004	0.22 0.009	0.21 0.019	0.13 0.011	0.18 0.008			
2	0.15 0.004	0.29 0.004	0.09 0.006	0.20 0.008	0.25 0.016	0.21 0.010	0.21 0.011	0.50 0.059	0.26 0.022	0.23 0.010	0.18 0.039	0.41 0.002	0.45 0.015			
1	0.25 0.024	0.26 0.039	0.46 0.072	0.42 0.007	0.18 0.073	0.36 0.018	0.25 0.001	0.30 0.066	0.18 0.012	0.39 0.049	0.19 0.024	0.10 0.010	0.05 0.005			

o Presencia de jales

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

**Tabla D. Porcentaje de carbono (%) en suelo superficial.**

Fila	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O
21	3.9 0.20	3.2 0.00	2.9 0.20	2.8 0.78	1.8 0.39	1.4 0.39	6.2 0.39	9.8 0.39	15.0 1.96	9.5 0.59	3.6 0.00	2.3 0.59	8.1 0.59	6.3 0.20	13.2 1.18
20	3.9 0.20	3.5 0.20	3.7 0.20	2.9 0.20	3.2 0.00	10.6 0.39	6.6 0.39	7.4 0.39	7.9 0.59	2.4 0.39	1.7 0.20	2.4 0.39	1.8 0.00	9.9 1.37	1.6 0.00
19	3.1 0.20	2.8 0.39	3.4 0.39	2.3 0.20	2.3 0.20	4.2 0.39	15.9 0.20	3.4 0.39	1.8 0.00	2.2 0.39	2.8 0.00	2.5 0.20	2.2 0.00	5.5 0.20	10.2 0.78
18	3.2 0.39	2.0 0.00	2.1 0.20	10.5 0.59	10.0 0.39	9.5 0.20	3.2 0.00	6.3 0.20	2.5 0.20	2.1 0.20	2.5 0.20	3.1 0.20	2.4 0.39	20.3 0.59	1.8 0.00
17	4.6 0.39	5.9 0.20	2.9 0.20	8.8 0.39	8.2 0.39	12.5 0.59	14.5 0.59	5.7 0.59	7.3 0.20	10.7 0.20	2.4 0.39	1.6 0.00	1.8 0.00	3.9 0.20	2.6 0.00
16	1.9 0.20	2.1 0.20	2.8 0.00	2.5 0.20	8.7 0.20	2.7 0.20	7.7 0.20	3.1 0.20	9.9 0.20	4.4 0.39	6.2 0.39	10.0 0.39	3.7 0.20	2.6 0.00	2.3 0.20
15	2.6 0	1.5 0.20	2.3 0.20	8.5 0.20	5.1 0.20	8.0 0.39	3.2 0.39	9.4 0.39	2.6 0.39	1.9 0.20	1.4 0.00	2.9 0.20	6.5 0.20	4.9 0.59	4.0 0.39
14	4.4 0.39	2.3 0.20	2.0 0.00	6.5 0.59	6.0 0.00	3.1 0.20	2.3 0.20	3.9 0.59	0	0	0	0	5.7 0.20	4.6 0.39	2.7 0.20
13	3.0 0	3.5 0.20	8.6 0.39	8.6 0.39	6.8 0.39	4.6 0.00	0.7 0.20	0	0	0	0	0	4.5 0.20	12.8 3.92	5.1 0.59
12	3.0 0.39	4.5 0.59	1.9 0.20	3.9 0.59	3.3 0.20	4.0 0.39	0	0	0	0	0	0	4.7 0.20	5.9 0.59	5.5 0.20
11	4.8 0.78	4.8 0.00	8.1 0.59	6.2 0.00	2.9 0.20	2.9 0.20	0	0	0	0	0	0	5.3 0.20	3.9 0.20	4.9 0.59
10	9.1 0.20	5.9 0.59	2.4 0.00	9.9 0.59	7.6 0.39	0	0	0	0	0	0	0	6.7 0.20	6.6 1.18	3.6 0.00
9	7.5 1.76	2.7 0.20	4.0 0.00	6.4 0.39	1.9 0.20	← Valor promedio			0	0	0	0	4.5 0.20	1.7 0.20	3.0 0.00
8	6.9 0.59	14.0 0.39	7.5 0.20	7.4 0.39	1.9 0.20	← Desviación estándar			0	0	0	0	4.7 0.20	1.8 0.00	
7	9.5 0.20	3.0 0.39	4.5 0.20	4.1 0.20	5.1 0.59	0	0	0	0	0	0	0	6.0 0.39	1.4 0.39	
6	4.7 0.59	4.4 0.39	17.7 1.37	20.0 0.78	5.7 0.59	8.0 0.00	0	0	0	0	0	0	4.0 0.76	3.3 0.20	
5	4.5 0.20	8.5 0.59	9.9 0.98	9.4 0.39	7.2 0.39	5.8 0.39	3.1 0.20	0	0	0	0	0	2.8 0.39	2.1 0.59	
4	4.8 0.39	12.3 0.20	11.6 0.39	9.5 0.20	1.8 0.39	4.2 0.39	4.1 0.59	6.0 0.78	0	0	0	0	5.1 0.20	4.7 1.37	
3	5.2 1.11	14.0 5.82	2.6 0.42	2.0 0.42	5.6 1.11	11.7 2.49	5.9 0.59	4.2 0.39	4.6 0.04	4.1 0.20	3.7 0.59	2.3 0.20	6.3 0.20		
2	6.9 0.14	16.4 0.42	2.2 0.00	2.0 0.00	3.1 0.14	5.6 1.11	4.1 0.97	8.8 0.42	4.3 0.55	5.8 0.42	3.3 1.39	9.3 1.39	8.2 1.94		
1	5.3 0.14	6.2 0.83	4.9 0.97	4.7 0.14	1.4 0.00	7.3 0.14	9.1 0.14	4.9 0.97	2.8 0.00	8.0 1.11	2.6 0.00	2.9 0.14	1.9 0.14		

0 Presa de jales

Tabla E. Concentración de As y Pb totales (mg/kg) Indices As/Pb y Pb menos As en muestras de suelo superficial (0-1.5 cm)

Ubicación puntos en rejilla de muestreo	Conc. As mg/kg	Conc. Pb mg/kg	Relación As/Pb	Diferencia Pb-As
1 A	89.0	230.0	0.35	140.7
1 B	119.0	465.6	0.26	346.6
1 C	131.8	545.3	0.24	413.5
1 D	109.6	214.5	0.51	104.9
1 E	139.3	404.2	0.34	264.9
1 F	147.8	586.4	0.25	438.6
1 G	261.1	848.4	0.30	587.3
1 H	149.6	776.5	0.19	626.9
1 I	235.3	756.0	0.32	520.7
1 J	218.5	828.0	0.27	609.5
1 K	174.8	630.8	0.28	448.9
1 L	100.9	501.6	0.20	400.6
1 M	20.2	118.6	0.17	98.4
2 A	78.1	240.3	0.33	162.2
2 B	111.6	453.1	0.25	341.5
2 C	13.5	80.0	0.22	46.5
2 D	95.8	242.3	0.39	146.5
2 E	74.2	208.0	0.36	133.8
2 F	222.1	435.1	0.51	213.0
2 G	198.9	541.0	0.37	342.1
2 H	232.2	664.7	0.34	441.5
2 I	316.4	705.6	0.45	390.2
2 J	95.8	352.6	0.27	256.8
2 K	228.3	700.6	0.33	472.2
2 L	184.4	647.8	0.22	663.2
2 M	71.5	348.4	0.20	277.9
3 A	114.6	165.6	0.69	51.0
3 B	182.4	252.7	0.76	60.3
3 C	63.2	204.4	0.31	141.2
3 D	212.1	228.3	0.93	18.2
3 E	161.5	293.3	0.58	118.8
3 F	278.8	469.6	0.59	190.8
3 G	238.6	354.9	0.64	126.3
3 H	60.2	111.7	0.72	31.5
3 I	221.7	251.0	0.89	29.3
3 J	186.6	908.1	1.87	-190.5
3 K	235.1	463.2	0.48	258.1
3 L	73.9	212.7	0.35	138.8
3 M	98.1	445.1	0.22	347.0

Ubicación puntos en rejilla de muestreo	Conc. As mg/kg	Conc. Pb mg/kg	Relación As/Pb	Diferencia Pb-As
9 A	453.4	202.2	2.25	-251.2
9 B	484.2	177.1	2.56	-307.0
9 C	1813.6	263.1	6.89	-1550.5
9 D	3131.2	568.1	5.51	-2563.1
9 E	5953.0	411.9	12.76	-4841.1
9 F	3795.1	524.9	7.23	-3270.3
9 M	389.5	71.3	5.16	-318.3
9 N	14.4	36.5	0.47	16.1
10 A	405.8	179.7	2.26	-226.9
10 B	482.5	177.8	2.77	-314.7
10 C	598.5	165.1	3.57	-433.4
10 D	2347.8	335.0	7.01	-2012.8
10 E	4555.1	629.1	7.30	-3926.0
10 L	4488.6	548.2	8.19	-3940.4
10 M	1022.0	270.1	3.79	-751.9
10 N	195.4	168.7	1.16	-26.7
11 A	166.8	14.3	11.64	-152.5
11 B	56.4	42.2	0.48	14.9
11 C	1721.3	313.0	5.50	-1408.3
11 D	3725.6	579.9	6.42	-3145.7
11 E	5741.0	425.2	12.15	-4717.9
11 F	3737.8	487.2	7.67	-3250.4
11 L	5048.5	482.9	10.91	-4565.6
11 M	10.2	170.1	0.1	159.9
11 N	35.6	325.0	0.11	289.4
12 A	90.4	44.6	2.05	-45.8
12 B	335.8	89.7	3.74	-246.1
12 C	218.9	56.7	3.73	-160.3
12 D	577.4	162.9	3.55	-414.5
12 E	2202.2	213.2	10.33	-1989.0
12 F	6490.9	412.5	8.44	-6078.4
12 G	6300.3	654.2	11.35	-5746.1
12 M	803.6	146.4	6.17	-157.2
12 N	47.9	485.3	0.10	437.6
13 A	112.2	298.9	1.90	-186.7
13 B	278.9	86.3	3.27	-192.6
13 C	454.5	180.5	2.39	-264.0
13 D	2493.1	463.4	6.50	-2029.8
13 E	3246.6	577.2	5.62	-2669.4

Ubicación puntos en rejilla de muestreo	Conc. As mg/kg	Conc. Pb mg/kg	Relación As/Pb	Diferencia Pb-As
16 K	5328.1	978.9	5.44	-4349.2
16 L	3737.1	710.5	5.26	-3026.6
16 M	3079.5	539.1	5.71	-2540.4
16 N	178.2	36.3	4.91	-141.9
16 O	499.2	89.7	5.56	-409.5
17 A	73.6	76.8	0.93	3.2
17 B	50.5	110.4	0.46	59.9
17 C	42.2	106.8	0.39	64.6
17 D	166.5	187.5	0.89	21.0
17 E	139.9	180.6	0.77	40.7
17 F	698.8	265.8	2.59	-432.9
17 G	634.7	274.4	2.31	-360.3
17 H	605.8	213.2	2.84	-392.6
17 I	1302.8	447.9	2.91	-854.9
17 J	3102.4	1660.0	1.87	-1442.4
17 K	2328.8	460.4	5.06	-1868.4
17 L	2084.3	422.3	4.94	-1662.0
17 M	1894.0	164.2	11.53	-1729.8
17 N	333.3	81.6	4.07	-251.4
17 O	1341.6	14.8	91.0	-120.0
18 A	23.3	28.4	0.85	1.2
18 B	24.1	28.2	0.95	4.1
18 C	23.3	30.2	0.72	9.0
18 D	132.5	133.3	0.99	0.8
18 E	53.0	63.7	0.83	10.7
18 F	103.7	136.8	0.76	33.1
18 G	29.9	74.4	0.40	44.5
18 H	44.8	86.5	0.52	41.7
18 I	18.2	74.7	0.24	56.5
18 J	50.2	86.0	0.58	35.9
18 K	75.5	88.0	0.86	12.5
18 L	156.5	123.8	1.28	-32.7
18 M	136.6	103.0	1.33	-33.6
18 N	1711.0	270.9	6.32	-1440.1
18 O	103.1	12.0	8.58	-91.1
19 A	26.9	22.2	1.21	4.7
19 B	27.1	19.5	1.39	7.6
19 C	28.6	24.4	1.17	-4.2
19 D	25.2	19.7	1.28	-5.4

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Tabla E. Concentración de As y Pb totales (mg/kg) Indices As/Pb y Pb menos As en muestras de suelo superficial (0-1.5 cm) (Continuación)

Ubicación puntos de rejilla de muestreo	Conc. As mg/kg	Conc. Pb mg/kg	Relación As/Pb	Diferencia Pb-As
4	106.9	59.2	1.86	-50.7
4	166.1	125.3	1.33	-40.8
4	111.2	60.6	1.38	-50.6
4	112.3	227.6	0.49	115.3
4	214.7	488.4	0.49	273.7
4	218.5	413.9	0.52	195.4
4	1593.8	653.6	2.34	-940.2
4	412.9	407.0	1.01	-5.9
4	116.5	390.3	0.30	273.8
4	115.7	207.8	0.56	91.9
4	109.2	72.4	1.51	-36.8
5	124.2	336.7	0.37	212.5
5	351.1	223.4	2.47	-127.7
5	97.1	235.0	0.416	137.9
5	1205.3	268.0	4.67	-937.3
5	3814.3	327.6	11.64	-3486.7
5	4591.4	347.4	13.22	-4244.0
5	423.0	231.0	1.83	-192.0
5	292.0	199.8	1.46	-92.2
5	722.9	77.2	9.38	-645.7
5	808.5	86.0	9.19	-720.5
5	1580.2	398.3	4.70	-1181.9
5	588.7	514.0	1.91	-67.7
5	2030.2	282.1	7.20	-1748.1
5	2162.7	228.4	9.47	-1934.3
5	968.7	299.3	3.24	-669.4
5	583.8	157.8	3.70	-426.0
6	216.6	63.3	3.42	-153.4
6	404.8	117.6	3.44	-287.2
6	458.1	109.7	4.27	-348.4
6	635.9	148.0	4.30	-487.9
6	667.0	152.6	4.36	-514.2
6	1172.3	535.3	2.38	-637.0
6	31.9	17.3	3.35	-14.6
6	250.5	99.6	2.52	-151.0
6	457.4	206.3	2.20	-251.1
6	627.8	235.7	2.66	-392.1
6	2322.5	390.1	7.04	-1932.4
6	2891.3	544.5	5.31	-2346.8
6	1152.9	440.2	2.85	-712.8
6	116.2	22.8	5.10	-93.4

Ubicación puntos de rejilla de muestreo	Conc. As mg/kg	Conc. Pb mg/kg	Relación As/Pb	Diferencia Pb-As
13	3945.4	453.1	8.71	-3492.4
13	6778.1	1139.8	5.95	-5638.3
13	7687.0	693.2	11.05	-7293.8
13	1468.6	208.8	7.10	-1269.8
13	314	235.3	0.13	78.7
14	147.1	45.9	3.23	-101.6
14	140.3	54.6	2.57	-85.8
14	86.7	37.2	2.33	-49.5
14	3141.1	289.3	10.86	-2851.8
14	2177.1	470.4	4.63	-1706.7
14	6331.0	784.0	8.18	-5547.0
14	6384.7	940.3	6.79	-5444.4
14	3612.4	405.9	8.90	-3206.5
14	4417.8	286.1	15.44	-4131.7
14	2240.5	230.7	7.71	-1948.8
14	1035.9	405.5	2.55	-630.4
15	24.7	67.1	0.37	-42.4
15	36.8	71.3	0.52	-34.5
15	39.4	78.3	0.50	-38.9
15	116.2	105.8	1.08	-8.3
15	3383.5	265.6	15.37	-3117.9
15	763.4	512.3	1.50	-251.1
15	691.4	298.3	2.32	-393.1
15	2890.5	779.7	3.69	-2110.8
15	5601.2	1050.8	5.28	-4550.4
15	5514.5	904.7	6.10	-4609.8
15	4753.3	700.1	7.13	-4053.2
15	3365.3	736.2	4.56	-2629.1
15	3349.7	357.0	9.38	-2992.7
15	884.6	268.7	3.32	-615.9
16	33.4	28.7	1.25	-4.7
16	45.2	28.0	1.74	-17.2
16	31.8	33.1	1.26	-1.3
16	71.3	32.4	2.21	-38.4
16	269.9	135.3	2.15	-134.6
16	628.7	163.6	4.19	-465.1
16	238.2	148.8	1.64	-119.4
16	581.1	126.8	3.01	-454.3
16	3430.9	660.0	5.19	-2770.9
16	4768.9	785.3	6.07	-3983.6

Ubicación puntos de rejilla de muestreo	Conc. As mg/kg	Conc. Pb mg/kg	Relación As/Pb	Diferencia Pb-As
19	23.7	18.5	1.28	-5.2
19	55.5	43.3	1.28	-12.2
19	74.2	75.8	0.98	1.6
19	23.7	34.7	0.76	8.0
19	34.4	35.1	1.32	-0.3
19	80.3	32.7	2.44	-47.6
19	98.5	32.9	3.00	-65.6
19	105.3	30.8	3.45	-74.4
19	105.4	28.0	3.77	-77.4
19	1011.0	168.7	6.07	-842.3
19	944.1	342.4	2.76	-601.7
20	12.0	23.4	0.51	-11.4
20	13.5	26.7	0.51	-13.2
20	15.2	31.1	0.49	-15.9
20	12.7	24.5	0.52	-11.9
20	12.5	25.5	0.49	-13.1
20	50.4	98.8	0.51	-48.4
20	48.5	94.0	0.52	-45.6
20	39.0	67.2	0.58	-28.2
20	65.5	100.6	0.65	-35.1
20	20.5	33.8	0.61	-13.3
20	34.5	32.7	1.06	-1.9
20	48.1	45.0	1.07	-3.1
20	57.8	38.0	1.50	-19.8
20	670.2	104.7	6.40	-565.6
20	928.4	262.8	3.52	-665.6
21	7.0	14.8	0.44	-7.8
21	6.1	14.0	0.44	-7.9
21	7.4	16.5	0.45	-9.2
21	6.8	17.3	0.39	-10.5
21	7.0	11.2	0.63	-4.2
21	3.7	9.3	0.33	-5.7
21	3.0	41.6	0.49	-38.7
21	24.8	86.5	0.29	-61.7
21	28.2	87.4	0.32	-59.2
21	30.3	75.9	0.40	-45.6
21	21.5	31.7	0.68	-10.3
21	32.7	25.5	1.28	-7.2
21	46.3	135.6	0.34	-89.3
21	402.8	57.8	7.84	-350.1
21	627.3	233.7	2.68	-393.6

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**