



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS

BIOACCESIBILIDAD DEL ARSÉNICO, CADMIO, COBRE,
PLOMO Y ZINC EN JALES MINEROS Y EN SUELOS
CONTAMINADOS POR RESIDUOS MINERO-
METALÚRGICOS

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA
FLAVIO NORBERTO LÓPEZ VELECELA

TUTOR
MARIO VILLALOBOS PEÑALOSA
INSTITUTO DE GEOLOGÍA

MÉXICO, D. F. ENERO 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

JURADO

Presidente

Dra. Martha Aguilar Martínez
Facultad de Química, UNAM

Vocal

Dra. María del Carmen Durán Domínguez
Facultad de Química, UNAM

Vocal

Dra. Araceli Patricia Peña Álvarez
Facultad de Química, UNAM

Vocal

Dra. Ofelia Morton Bermea
Instituto de Geofísica, UNAM

Secretario

Dra. Ana María Martínez Vázquez
Instituto de Investigaciones en Materiales, UNAM

Sustentante

Q. Flavio Norberto López Velecela

Tutor

Dr. Mario Villalobos Peñalosa

AGRADECIMIENTOS

Primeramente a mi Dios porque ha sabido darme los medios y la paciencia para cumplir con mis metas.

A la Universidad Nacional Autónoma de México en conjunto con el Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas por la oportunidad de incrementar mi desarrollo personal.

Al Dr. Mario Villalobos Peñalosa, por la asesoría y tiempo dedicado a mi persona para que este trabajo se llevara a cabo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada (245523).

Al Dr. Francisco Martín Romero por la gran ayuda, consejos e ideas que ha aportado durante el avance del trabajo.

A todo el personal del Laboratorio de Análisis Físico-Químicos de Ambiente (LAFQA) por toda la logística proporcionada y el tiempo compartido.

A la Dra. Rosa María Prol Ledesma por su colaboración en la recolección de las muestras de Taxco; a Fabiola Vega e Inés Ramos del Laboratorio de Geoquímica Ambiental, la Dra. Teresa Pi I Puig del Laboratorio de Difracción de Rayos X (ambos laboratorios en el Instituto de Geología, UNAM), y a la M. en C. María Elena García Arreola del Laboratorio de Geoquímica en el Instituto de Geología (UASLP) por la colaboración en los análisis realizados.

A la Industrial Minera México S.A. de C.V.

A los miembros del jurado: Dra. Martha Aguilar Martínez, Dra. María del Carmen Durán Domínguez, Dra. Araceli Patricia Peña Álvarez, Dra. Ofelia Morton Bermea y Dra. Ana María Martínez Vázquez por las sugerencias y comentarios que realizaron al trabajo, y también por la motivación brindada.

Finalmente a toda la comunidad de amigos mexicanos y ecuatorianos que con sus vivencias, amistad y ejemplo han hecho posible que esto llegue a su fin.

A toda mi familia que me incentivan para ser una persona mejor y dan tanta felicidad a mi vida.

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Análisis Físico-Químicos de Ambiente (LAFQA), en el Instituto de Geografía de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la tutoría del Dr. Mario Villalobos Peñalosa.

Los resultados del trabajo realizado se presentaron en:

XXII CONGRESO NACIONAL DE GEOQUÍMICA

Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Veracruzana, Campus Coatzacoalcos, en colaboración con el Instituto Nacional de Geoquímica (INAGEQ). Octubre, 2012

Flavio López Velecela, Mario Villalobos y Francisco Martín Romero (2012)
“Bioaccesibilidad de elementos potencialmente tóxicos en jales mineros y en suelos contaminados por residuos minero-metalúrgicos”.

CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ABREVIATURAS	xi
GLOSARIO	xv
RESUMEN	xvii
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Generalidades.....	1
1.2. Antecedentes	1
1.3. Justificación	2
1.4. Objetivos	2
1.5. Metas.....	3
1.6. Hipótesis	3
2. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. Bioaccesibilidad.....	5
2.1.1. Introducción a la fisiología humana	5
2.1.2. Consideraciones en el diseño de un método gastrointestinal <i>in vitro</i>	7
2.1.3. Fundamentos para el uso de la pruebas <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>	7
2.1.4. Desarrollo de un método gastrointestinal <i>in vitro</i>	10
2.1.5. Validación de las mediciones de bioaccesibilidad	12
2.1.6. Correlación <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>	13
2.2. Extracciones simples usadas en la evaluación del comportamiento de los EPT ...	14
2.2.1. Ácido clorhídrico.....	15
2.2.2. Acetato de amonio	16
2.3. Esencialidad y toxicidad (Riesgo para los humanos)	16
2.3.1. Fuentes de exposición.....	19
2.3.2. Generalidades de los elementos de estudio	19
2.4. Actividades minero-metalúrgicas en México	30
2.4.1. Residuos de actividad la minera	31

2.5.	Legislación ambiental	32
3.	METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	35
3.1.	Materiales.....	35
3.1.1.	Muestreo	35
3.2.	Métodos.....	38
3.2.1.	Tratamiento de las muestras	38
3.2.2.	Análisis físicos y químicos de suelos y jales	38
3.2.3.	Bioaccesibilidad.....	39
3.2.4.	Extracciones simples	40
3.2.5.	Espectroscopía de emisión atómica por plasma acoplado inductivamente (<i>ICP-AES</i> , siglas en inglés)	41
3.2.6.	Espectroscopía de masas con fuente de plasma inductivamente acoplado (<i>ICP-MS</i> , por sus siglas en inglés).....	41
3.2.7.	Fluorescencia de rayos X (FRX)	42
3.2.8.	Microscopía electrónica de barrido y espectroscopía por dispersión de energía (<i>SEM-EDS</i> , por sus siglas en inglés)	43
3.2.9.	Difracción de rayos X (DRX).....	43
3.2.10.	Analítica, aseguramiento y control de la calidad.....	44
3.2.11.	Análisis estadístico	44
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	47
4.1.	Análisis físicos y químicos de suelos y jales	47
4.1.1.	pH	48
4.1.2.	Conductividad eléctrica (CE)	48
4.1.3.	Capacidad de intercambio catiónico (CIC) y contenido de “arcillas”	49
4.1.4.	Análisis químico elemental	50
4.2.	Concentraciones semitotales de los EPT en la fracción de muestra menor a 250 µm.....	54
4.2.1.	Correlaciones entre las concentraciones totales de EPT y elementos mayores en las partículas < 250 µm con los parámetros físico-químicos	56
4.2.2.	Correlaciones entre los contenidos de EPT en la fracción de muestra < 250 µm.....	57
4.3.	Bioaccesibilidad y extracciones simples.....	58

4.3.1.	Bioaccesibilidad.....	58
4.3.2.	Bioaccesibilidad y biodisponibilidad.....	78
4.3.3.	Filtración.....	81
4.4.	Extracciones simples.....	82
4.4.1.	Ácido clorhídrico.....	82
4.4.2.	Acetato de amonio.....	91
4.5.	Microscopía electrónica de barrido.....	94
4.6.	Difracción de rayos X.....	97
4.7.	Bioaccesibilidad en la evaluación de riesgos.....	101
4.8.	Resumen general de los resultados.....	110
5.	CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.....	113
5.1.	Conclusiones.....	113
5.2.	Perspectivas.....	113
6.	ANEXOS.....	115
6.1.	Método de extracción secuencial con HCl 0.1 mol L ⁻¹	115
6.2.	Gráficos de las correlaciones encontradas.....	115
6.3.	Parámetros de regresión lineal.....	121
6.4.	Comparación entre las concentraciones totales de EPT en dos tamaños de partícula (250 µm vs 2 mm).....	124
	FUENTES BIBLIOGRÁFICAS.....	131



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1.4.1. La composición química de la saliva, fluido gástrico, fluido duodenal y de la bilis ²	11
Tabla 2.3.1. Consecuencias de la deficiencia y exceso de algunos elementos traza esenciales ³	17
Tabla 2.3.2. Consecuencias del exceso de algunos elementos traza no esenciales ³	18
Tabla 2.3.2.2.1. Productos de solubilidad de compuestos de Cd y la mínima actividad del anión calculada que controla la concentración de Cd ³	25
Tabla 2.3.2.5.1. Contenido de Zn en minerales de Zn comunes ³	29
Tabla 2.5.1. Concentraciones máximas permitidas (CPM) en mg kg ⁻¹ para elementos traza en suelos agrícolas.....	33
Tabla 3.1.1.1. Códigos, coordenadas <i>UTM</i> y tipo de muestras que se recolectaron en Taxco, Guerrero.....	35
Tabla 3.1.1.2. Códigos y coordenadas <i>UTM</i> de las muestras recolectadas en San Luis Potosí, San Luis Potosí.....	37
Tabla 3.2.5.1. Condiciones analíticas del equipo de <i>ICP-AES</i>	41
Tabla 3.2.5.2. Límites de detección instrumentales del equipo de <i>ICP-AES</i>	41
Tabla 3.2.6.1. Condiciones analíticas de operación del equipo de <i>ICP-MS</i>	42
Tabla 3.2.6.2. Límites de detección (LD) instrumentales del equipo de <i>ICP-MS</i>	42
Tabla 3.2.7.1. Límites de detección (LD) instrumentales del equipo de FRX THERMO NITON XL-3t.....	42
Tabla 4.1.1. Resultados de los análisis físico-químicos de las muestras de Taxco y San Luis Potosí.....	47
Tabla 4.2.1. Concentraciones totales de elementos en las muestras recolectadas de Taxco y San Luis Potosí tamizadas para obtener partículas menores a los 250 µm analizadas por FRX.....	55
Tabla 4.3.1.1.1. Concentraciones bioaccesibles de los metales estudiados en fase gástrica.....	59
Tabla 4.3.1.1.2. Coeficientes de variación de los resultados obtenidos de las extracciones simulando la FG según el método de Ruby <i>et al.</i> (1993) ¹⁵	60
Tabla 4.3.1.1.3.1. Parámetros de la rectas de regresión lineal entre las bioaccesibilidades en FG (eje de las ordenadas) y las concentraciones totales en las partículas < 250 (eje de las abscisas).....	65
Tabla 4.3.1.2.1. Concentración bioaccesible de EPT estudiados en la fase intestinal.....	67

Tabla 4.3.1.2.2. Coeficientes de variación de los resultados de bioaccesibilidad en la FI según el método de Ruby <i>et al.</i> (1993) ¹⁵	69
Tabla 4.3.1.3.1. Concentraciones promedio de As, Pb y Fe totales en las partículas < 250 μm , en FG y en FI de las muestras SLP-02 y SLP-05	74
Tabla 4.3.2.1. Ecuaciones presentadas en la bibliografía que relacionan a la biodisponibilidad <i>in vivo</i> y la bioaccesibilidad <i>in vitro</i>	78
Tabla 4.3.2.2. Bioaccesibilidad intestinal porcentual (%BAI) y biodisponibilidad relativa (%BD) calculada para los elementos As, Cd y Pb.....	79
Tabla 4.3.3.1. Diferencias en la bioaccesibilidad relativa del Pb de la fase intestinal en una misma muestra dependiendo del método de separación empleado ¹²⁸	81
Tabla 4.4.1.1. Relación masa (g) de muestra:volumen (mL) de solución de HCl 0.1 mol L ⁻¹ , para obtener una solución de pH = 2 con un tiempo de agitación de 90 min ...	83
Tabla 4.4.1.2. Concentraciones de los elementos de estudio resultado de las extracciones con HCl a pH = 2 luego de 30 y 60 minutos (t) de extracción de las muestras seleccionadas de Taxco y San Luis Potosí	84
Tabla 4.4.1.3. Concentración de los metales estudiados que se disolvieron en la solución de HCl a pH = 2, con tiempo de agitación de 30 min	85
Tabla 4.4.1.4. Parámetros de la recta de regresión (HCl a pH = 2 vs FG) calculados para todas las muestras por elemento de modo general y para cada sitio de estudio.....	88
Tabla 4.4.1.1.1. Porcentajes de error con respecto al valor experimental de las concentraciones calculadas a partir de los parámetros de regresión general.....	91
Tabla 4.4.2.1. Contenido de los metales estudiados que se disolvieron en la solución de NH ₄ OAc 1 mol L ⁻¹ a pH = 7 con 1 h de agitación.....	92
Tabla 4.4.2.2. Ecuaciones de las regresiones lineales que tuvieron fuertes correlaciones entre la extracción con NH ₄ OAc 1 mol L ⁻¹ y los extractos de FG y FI según el método <i>PBET</i>	94
Tabla 4.6.1. Concentraciones totales, medidas por FRX, de las muestras seleccionadas para análisis por DRX.....	98
Tabla 4.7.2. Valores de las dosis de referencia (DRf) de las concentraciones de referencia en la fase (CFRef) y de las concentraciones de referencia totales para cada uno de los elementos de estudio	106
Tabla 6.3.1. Parámetros de regresión lineal de las comparaciones entre las concentraciones en la FI con las extracciones con HCl a pH = 2	121
Tabla 6.3.2. Parámetros de regresión lineal de las comparaciones entre las concentraciones en la FG con las extracciones con NH ₄ OAc 1 mol L ⁻¹	122
Tabla 6.3.3. Parámetros de regresión lineal de las comparaciones entre las concentraciones en la FI con las extracciones con NH ₄ OAc 1 mol L ⁻¹	123

Tabla 6.4.2. Parámetros estadísticos de regresión lineal entre los tamaños de partícula < 2 mm y < 250 μm , calculados para las concentraciones de los elementos analizados por FRX de manera general y para cada sitio de estudio.....	124
Tabla 6.4.1. Concentraciones totales de elementos en las muestras originales recolectadas de Taxco y San Luis Potosí tamizadas para obtener partículas menores a los 2 mm (muestra original) analizadas por FRX.....	125
Tabla 6.4.3. Contribución de las concentraciones al contenido total de cada elemento en la muestra original	127
Tabla 6.4.4. Concentraciones totales experimentales y calculadas a partir de la relación absoluta de las fracciones de elementos en las muestras de Taxco y San Luis Potosí seleccionadas	128
Tabla 6.4.5. Error porcentual de las concentraciones totales determinadas por la suma del contenido de fracciones con relación a las concentraciones totales experimentales	129



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1.1.1. Sistema digestivo humano, incluye el tracto gastrointestinal y los órganos digestivos asociados ¹⁷	6
Figura 2.3.2.1.1. Diagrama de la distribución de especies para el (a) ácido arsenioso [H ₃ AsO ₃] y (b) ácido arsénico [H ₃ AsO ₄].....	21
Figura 2.3.2.1.2. Diagrama Eh-pH para As a 25°C y 1 atm con una concentración de As total de 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ y de S ²⁻ total de 10 ⁻³ mol L ⁻¹	22
Figura 3.1.1.1. Mapa de ubicación de las muestras recolectadas en Taxco, Guerrero	36
Figura 3.1.1.2. Mapa que ubica las muestras que se recolectaron en San Luis Potosí, San Luis Potosí.	37
Figura 3.2.3.1. Equipo para evaluar la bioaccesibilidad según el método <i>PBET</i> en el Laboratorio de Geoquímica Ambiental, del Instituto de Geología (UNAM).....	39
Figura 4.1.4.4.1. Muestras de los jales grises (a y b) y oxidados (c y d).....	52
Figura 4.3.1.1.3.1. Correlaciones entre las concentraciones en la FG y totales en las partículas de muestra < 250 µm para cada uno de los sitios de estudio	64
Figura 4.3.1.3.1. Comparación esquemática entre las bioaccesibilidades en la FG y la FI de los EPT de interés en el presente estudio	71
Figura 4.3.1.3.2. Gráfico de las concentraciones promedio de As, Pb y Fe totales en las partículas < 250 µm, en la fase gástrica (FG) y en la fase intestinal (FI) de las muestras SLP-02 y SLP-05.....	75
Figura 4.3.1.3.3. Concentraciones de As bioaccesible en la FG seguida de las condiciones intestinales con tiempo extendido a 1440 min (24 h) (líneas continuas) y en condiciones de la FG por 1440 min (líneas punteadas).....	76
Figura 4.4.1.1. Regresión lineal entre el contenido de CIT y la cantidad (mL) de solución de HCl 0.1 mol L ⁻¹ para que al agregarla a 1g de muestra de suelo, jal o residuo, se pueda obtener una mezcla con pH entre 1.8 y 2.2 por 90 min	83
Figura 4.4.1.2. Comparación general de las concentraciones en la FG y las extracciones con HCl a pH = 2 (C).....	86
Figura 4.4.1.3. Rectas de regresión entre las extracciones con HCl a pH = 2 (C) vs las concentraciones en la FG para cada sitio de estudio.	87
Figura 4.4.1.1.1. Comparación de las concentraciones experimentales de la FG y las calculadas a partir de las concentraciones del extracto de HCl a pH = 2	90
Figura 4.4.2.1. Comparación de las concentraciones en FI y las concentraciones con NH ₄ OAc 1 mol L ⁻¹ a pH 7	93

Figura 4.6.1. Micrografía de la muestra SLP-09 de la fracción de muestra < 250 μm molida. Se puede observar una esfera blanca en el centro de la imagen. Se muestra también el análisis <i>EDS</i> en esta partícula.....	95
Figura 4.6.2. Micrografía de la muestra SLP-09 de la fracción de muestra < 38 μm . Se puede observar un cristal piramidal en el centro de la imagen. Se muestra también el análisis <i>EDS</i> de esta partícula	96
Figura 4.6.3. Micrografía de la muestra TSF-08 de la fracción de muestra < 38 μm . Se muestra también el análisis <i>EDS</i> de esta partícula.....	97
Figura 4.6.1. Patrones de difracción de las muestras SLP-02 (menos bioaccesible en la FG) y SLP-05 (más bioaccesible en la FG)	98
Figura 4.6.2. Patrones de difracción de las muestras SLP-02 (menos bioaccesible en FG) y SLP-05 (más bioaccesible en la FG)	99
Figura 4.6.3. Patrones de difracción de la muestra SLP-02 (menos bioaccesible) antes y después del tratamiento para concentrar minerales por suspensión	100
Figura 4.7.1. Comparación de las concentraciones totales de la fracción de suelo < 250 μm , de las concentraciones en la FG y en la FI, con las concentraciones de referencia calculadas de los elementos de estudio.....	109
Figura 6.2.1. Correlaciones entre los parámetros físico-químicos	115
Figura 6.2.2. Correlaciones entre las concentraciones totales de los EPT en las partículas < 250 μm y los parámetros físico-químicos.....	116
Figura 6.2.3. Correlaciones entre las concentraciones en la FG de los EPT de estudio y los parámetros físico-químicos	117
Figura 6.2.4. Correlaciones entre las concentraciones en la FI de los EPT de estudio y los parámetros físico-químicos	118
Figura 6.2.5. Correlaciones entre las concentraciones de los EPT en las partículas < 250 μm	118
Figura 6.2.6. Correlaciones entre las concentraciones de EPT en la FG.....	120

ABREVIATURAS

A	Concentración (mg kg^{-1}) resultado de la extracción con NH_4OAc 1 mol L^{-1} .
ADN	Ácido desoxirribonucleico.
b	Intersección con el eje de las ordenadas u ordenada al origen.
BA	Bioaccesibilidad relativa.
C	Concentración (mg kg^{-1}) resultado de la extracción con HCl a $\text{pH} = 2$.
CE	Conductividad eléctrica (mS cm^{-1}).
CE_T	Concentración específica total (mg kg^{-1}).
C_F	Concentración (mg kg^{-1}) en la fase (gástrica o intestinal).
C_{F-Ad}	Concentración (mg kg^{-1}) en la fase para adultos (gástrica o intestinal).
$C_{FRef.Ad}$	Concentración (mg kg^{-1}) en la fase de referencia para adultos.
C_{FRef-N}	Concentración (mg kg^{-1}) en la fase de referencia para niños.
CIC	Capacidad de intercambio catiónico ($\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$).
CIT	Carbono inorgánico total.
CI_T	Concentración inicial total (mg kg^{-1}).
CMP	Concentraciones máximas permitidas.
COT	Carbono orgánico total.
CP	Cociente de peligro.
CRM	Material de referencia certificado, por sus siglas en inglés (certified reference material).
CR_T	Concentración de referencia total (mg kg^{-1}).
C_T	Concentración total (mg kg^{-1}) en las muestras de tamaño $< 250 \mu\text{m}$.
CV	Coefficiente de variación.
DE	Duración de exposición (años).
DRf	Dosis de referencia ($\text{mg kg}^{-1} \text{ día}^{-1}$).
DRX	Difracción de rayos X.
EDS	Espectrometría por dispersión de energía, por sus siglas en inglés (energy dispersive X-ray spectroscopy).
EPT	Elementos potencialmente tóxicos, en este estudio As, Cd, Cu, Pb y Zn.

<i>FAO</i>	Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura, por sus siglas en inglés (Food and Agriculture Organization).
<i>FAR</i>	Factor de absorción relativa.
<i>FE</i>	Frecuencia de exposición (días año ⁻¹).
<i>FG</i>	Fase gástrica.
<i>FI</i>	Fase intestinal.
<i>FRX</i>	Fluorescencia de rayos X.
<i>ICP-AES</i>	Espectroscopia de emisión atómica por plasma acoplado inductivamente, por sus siglas en inglés (inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy).
<i>ICP-MS</i>	Espectrometría de masas con fuente de plasma inductivamente acoplado, por sus siglas en inglés (inductively coupled plasma mass spectrometry).
<i>IDE</i>	Ingesta diaria estimada (mg kg ⁻¹ día ⁻¹).
<i>IDE_{Ad}</i>	Ingesta diaria estimada para adultos (mg kg ⁻¹ día ⁻¹).
<i>IDE_N</i>	Ingesta diaria estimada para niños (mg kg ⁻¹ día ⁻¹).
<i>LD</i>	Límite de detección.
<i>LOAEL</i>	Nivel más bajo en el que se observan efectos adversos, por sus siglas en inglés (lowest observed adverse effect level).
<i>m</i>	Pendiente de la recta de regresión lineal.
<i>MC</i>	Masa corporal (kg).
<i>MLE</i>	Exposición más probable o media de la población, por sus siglas en inglés (most likely exposure).
<i>MOS</i>	Materia orgánica del suelo.
<i>NOAEL</i>	Nivel en el que no se observan efectos adversos, por sus siglas en inglés (non observed adverse effects level).
<i>PBET</i>	Método de extracción basado en la fisiología, por sus siglas en inglés (physiologically based extraction test).
<i>PT</i>	Período de tiempo promedio (días).
<i>PZC</i>	Punto de carga cero, por sus siglas en inglés (point of zero charge).
<i>r</i>	Coefficiente de correlación.
<i>RI</i>	Relación de ingestión de suelo (mg día ⁻¹).
<i>RIVM</i>	Instituto Nacional para la Salud Pública y el Ambiente, por sus siglas en holandés (Rijksinstituut Volksgezondheid En Milieu).

<i>RME</i>	Máxima exposición razonable, por sus siglas en inglés (reasonable maximum exposure).
R^2	Coefficiente de determinación.
<i>SEM</i>	Microscopía electrónica de barrido, por sus siglas en inglés (scanning electron microscope).
SEMARNAT	Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.
SLP	San Luis Potosí.
TE	Tiempo de exposición.
<i>TIM</i>	Modelo gastrointestinal de la Organización Holandesa para la Investigación Científica Aplicada, por sus siglas en inglés (TNO gastro-intestinal model).
TXC	Taxco.
uma	Unidad de masa atómica.
<i>US EPA</i>	Agencia de Protección del Ambiente de los Estados Unidos, por sus siglas en inglés (United States Environmental Protection Agency).
<i>UTM</i>	Sistema de coordenadas universal transversal de mercator, por sus siglas en inglés (universal transverse mercator).
<i>WHO</i>	Organización Mundial de la Salud, por sus siglas en inglés (World Health Organization).
<i>XANES</i>	Espectroscopía de absorción de rayos X cerca de la estructura de borde, por sus siglas en inglés (X-ray absorption near edge structure).
%BAG	Bioaccesibilidad porcentual gástrica.
%BAI	Bioaccesibilidad porcentual intestinal.
%BD	Biodisponibilidad porcentual.



GLOSARIO

Biodisponibilidad: Es la fracción de un elemento o compuesto químico que puede ser absorbido por el cuerpo a través del sistema gastrointestinal, el sistema pulmonar o la piel.

Bioaccesibilidad absoluta: Concentración (mg kg^{-1}) del EPT que se disolvió en la fase gástrica o permaneció disuelta en la fase intestinal según el método *PBET*.

Bioaccesibilidad relativa: Relación entre la bioaccesibilidad absoluta y la concentración en la muestra de tamaño de partícula $< 250 \mu\text{m}$. Se convierte en bioaccesibilidad porcentual multiplicándola por cien.

***PBET*:** Método desarrollado para determinar la bioaccesibilidad basado en la fisiología y se divide en dos fases: la gástrica y la intestinal; cada una de estas fases contiene soluciones que simulan a las existentes en un ser vivo, en este caso a conejos

***In vivo*:** Realizado en un organismo vivo.

***In vitro*:** Ensayo realizado en un ambiente artificial de laboratorio (del latín para en vidrio)

MATCH! 2: Programa para la identificación de fases minerales a partir de datos obtenidos por difracción de rayos X.

RESUMEN

La bioaccesibilidad es una técnica *in vitro* que simula las extracciones a solución acuosa de elementos potencialmente tóxicos (EPT) en las fases gástrica (FG) e intestinal (FI) por ingestión accidental de material contaminado al tracto gastrointestinal humano. Los diferentes reactivos químicos usados en este método de evaluación son los que han sido hallados en los jugos gástricos e intestinales de conejos y se ha establecido que son similares a la composición de niños, quienes se consideran como la población con mayor riesgo de presentar problemas de salud. En el presente trabajo se utilizó el método de extracción basado en la fisiología (*PBET*, en inglés) para evaluar la bioaccesibilidad de cuatro EPT en residuos minero-metalúrgicos y suelos contaminados por éstos, de dos zonas diferentes: Taxco, estado de Guerrero, y San Luis Potosí, estado de San Luis Potosí, ambos sitios de estudio en México. Se investigaron las correlaciones que pudieran existir entre las propiedades físicas y químicas, así como mineralógicas de las muestras contaminadas y sus valores de bioaccesibilidad de los EPT investigados. El método *PBET* hace uso de equipo y reactivos que pueden ser de difícil adquisición y alto costo, además de larga duración y alta sensibilidad a las condiciones y manejos durante el ensayo. Por lo tanto, este método no puede ser usado para evaluar cantidades grandes de muestras o de manera rutinaria y se investigó la posibilidad de sustituirlo por algún método de extracción simple usando, ya sea ácido clorhídrico (HCl) o acetato de amonio (NH₄OAc). Se evaluaron las correlaciones potenciales entre los resultados de dichas extracciones y las de FG y/o FI del método *PBET*. La extracción en FG del método *PBET* correlacionó de forma muy alta ($r > 0.915$) con las extracciones usando HCl a pH = 2, pero las extracciones con NH₄OAc no correlacionaron significativamente con ninguna extracción del método *PBET*, sugiriendo que la disponibilización de EPT no se lleva a cabo por procesos de intercambio iónico. Los parámetros físico-químicos no fueron capaces de explicar el comportamiento de extracción de los EPT en las fases del método *PBET*. Tampoco se pudo encontrar la mineralogía en que radican los EPT y que explicaran su bioaccesibilidad; sin embargo, de manera indirecta se encontró que la presencia de minerales mayores de baja cristalinidad puede afectar significativamente a las concentraciones extraídas de EPT en el cambio de las condiciones ácidas en FG a las neutras en FI. Por lo tanto, la disponibilización de EPT parece estar relacionada, por lo menos parcialmente, con procesos de adsorción de esfera interna.

Palabras clave: Bioaccesibilidad, extracciones simples.



ABSTRACT

Bioaccessibility is an *in vitro* technique that mimics the extractions to aqueous solution of potentially toxic elements (EPT) in the gastric (FG) and intestinal (FI) phases by accidental ingestion of contaminated material to the human gastrointestinal tract. The different chemical reagents used in this evaluation method are those found in the gastric acid and intestines of rabbits, and have been established as similar to the compositions in children, who are considered the population at greater health risks. In the present work the Physiologically-Based Extraction Test (PBET) was used to evaluate the bioaccessibility of four EPT in mining and metallurgical wastes and contaminated soils, of two different zones: Taxco, Guerrero state, and San Luis Potosí, San Luis Potosí state, both study sites in Mexico. The potential correlations were investigated between the physical and chemical properties, as well as mineralogical, of the contaminated samples, and their bioaccessibility values of the investigated EPT. The PBET makes use of equipment and reagents that may be difficult to acquire and of high costs, besides its long duration and high sensitivity to the conditions and handlings during the essay. Therefore, this method cannot be used to evaluate large quantities of samples or as a routine test, and the possibility to substitute it by some other simple extraction technique was investigated, using either hydrochloric acid (HCl) or ammonium acetate (NH₄OAc). The potential correlations between the results of such extractions and those in the FG or FI of the PBET were evaluated. The extraction in FG of the PBET showed a very high correlation ($r > 0.915$) with the extractions using HCl at pH 2, but the extractions using NH₄OAc did not correlate significantly with any of the PBET extractions, suggesting that the availability of EPT is not controlled by ionic exchange processes. The physical and chemical parameters were not capable of explaining the extraction behavior of the EPT in the phases of the PBET. Also, could not find the mineralogy in which the EPT are found and which explain their bioaccessibility; however, found indirectly that the presence of major minerals of low crystallinity may significantly affect the extracted concentrations of EPT when changing the acid conditions in the FG to the neutral conditions in the FI. Therefore, the availability of EPT seems to be related, at least partially, to inner-sphere adsorption processes.

Key words: Bioaccessibility, single extractions.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Generalidades

Los suelos son sistemas abiertos, con multicomponentes, biogeoquímicos que contienen sólidos, líquidos y gases. El considerar a los suelos como sistemas abiertos, implica la existencia de intercambio de materia y energía con sus alrededores (atmósfera, biosfera e hidrosfera). Este flujo de materia y energía es variable con el tiempo y el espacio, permitiendo el desarrollo de los perfiles del suelo y gobernando sus patrones de calidad. El suelo cumple con el papel de ser una reserva dinámica en el ciclo de los elementos químicos¹.

De los elementos químicos que se pueden encontrar en los suelos, están los denominados mayores, que son aquellos con concentraciones superiores los 100 mg kg⁻¹, y a los que se encuentran por debajo de este valor se los considera como “elementos traza”¹. Los suelos son la principal fuente de elementos traza para las plantas como nutrientes y como tóxicos². Entonces, el flujo de materia de los alrededores al suelo que se menciona incluye el ingreso de elementos y sustancias químicas que pueden tener efectos tóxicos.

Estos elementos potencialmente tóxicos (EPT) se pueden encontrar de manera natural en los suelos, pero el incremento anormal de éstos se debe a diferentes fuentes, como³:

- Actividades industriales
- Generación de electricidad por quema de combustibles fósiles
- Prácticas agrícolas
- Transporte y contaminación urbana
- Transporte de contaminantes de largo alcance

El presente trabajo se enfocará en las actividades industriales, específicamente en las actividades minero-metalúrgicas. La industria metalúrgica ha sido durante siglos una fuente de ingreso de recursos económicos, pero ha contribuido a la generación de grandes cantidades de residuos que contienen EPT en concentraciones que pueden tener efectos nocivos en el equilibrio ecológico y del ambiente. También es una fuente directa de exposición a estos elementos para los humanos por ingestión incidental de suelo (geofagia)⁴, inhalación de polvos, y absorción a través de la piel^{2,5}.

La escasez de regulaciones en materia de remediación de suelos contaminados ha generado la aparición de sitios contaminados, los que se han constituido en pasivos ambientales y causado la incertidumbre de los particulares en cuanto a las acciones que se deben llevar a cabo para remediar un sitio⁶.

1.2. Antecedentes

La acción de evaluar los riesgos de la toxicidad de los EPT basados en la concentración total de estos elementos en los suelos, resulta en una sobre-estimación del riesgo debido a

que, aunque estos elementos pueden presentar fracciones minerales fácilmente solubles, presentan otras fracciones que son prácticamente insolubles y por tanto inmóviles en el ambiente⁵. Sabiendo esto se han desarrollado investigaciones para estimar la cantidad de elementos tóxicos que pueden ser absorbidos por un organismo vivo, sean animales o plantas, y así determinar lo que se ha llamado “biodisponibilidad” *in vivo*^{7,8}.

Se han usado varias especies de animales para determinar la biodisponibilidad, especialmente de arsénico (As) y plomo (Pb), como regímenes de prueba y han incluido cerdos jóvenes⁹, ratas^{10,11}, conejos^{12,13} y monos¹⁴. Debido a la complejidad y dificultad de trabajar directamente con seres vivos, además de los altos costos, se determinó que un método *in vitro* que sea rápido y barato es necesario para investigar las interacciones de varios factores y comparar la relativa solubilidad de EPT desde fuentes sólidas.

Ha sido demostrado que las técnicas *in vitro* para evaluar la bioaccesibilidad de sustancias tóxicas en seres vivos se correlacionan directamente con el método *in vivo* realizado en varios tipos de animales^{15,16}.

1.3. Justificación

La disponibilidad de EPT hacia seres vivos en suelos contaminados depende de las formas químicas en que se encuentren y sus asociaciones mineralógicas. Por ejemplo, se espera que un mineral muy insoluble que contenga a un EPT sea poco disponible, asimismo un EPT fuertemente sorbido a otro mineral. Sin embargo, la disponibilidad del EPT en ambos casos puede tener un comportamiento variable con respecto a condiciones cambiantes de pH y de presencia de complejantes orgánicos, como ocurre en el estómago de mamíferos. Por lo tanto, se espera que concentraciones totales de EPT en dos ambientes diferentes tengan un comportamiento de disponibilidad y, por tanto, de bioaccesibilidad diferente.

Por otro lado, las técnicas *in vitro* usan una mezcla de sustancias con el objetivo de simular los fluidos encontrados en las fases tanto gástricas como intestinales del sistema digestivo (conejos en el presente estudio)⁶. El problema de este método *in vitro* es la cantidad de tiempo que toma realizar cada ensayo (alrededor de siete horas para seis muestras) y el sistema de agitación que se usa en el laboratorio (flujo de argón) que, para estas evaluaciones, resulta ser un método demasiado largo y costoso.

Debido a estas dificultades se hace necesario el encontrar otros medios de extracción más simples y expeditos que correlacionen con las extracciones obtenidas de los métodos de bioaccesibilidad de EPT, y por ende que resulten en análisis menos costosos y más reproducibles.

1.4. Objetivos

- Determinar la bioaccesibilidad (*in vitro*) de los elementos As, Cd, Cu, Pb, y Zn, y correlacionarla con las propiedades fisicoquímicas y/o contenidos mineralógicos de los jales y suelos contaminados por jales en Taxco, estado de Guerrero; y de los suelos

contaminados por residuos de la industria minero-metalúrgica en San Luis Potosí, estado de San Luis Potosí; ambas localidades en México, y

- Proponer un método de extracción simple con el cual se pueda evaluar, en un tiempo menor, las concentraciones en la fase gástrica y/o intestinal del método de extracción basa en la fisiología (*PBET*, por sus siglas en inglés, physiologically-based extraction test) para determinar dicha bioaccesibilidad.

1.5. Metas

- Caracterización de suelos y jales contaminados con EPT, desde el punto de vista fisicoquímico y mineralógico, incluyendo las concentraciones semitotales de As, Cd, Cu, Pb, y Zn.
- Realización de ensayos de bioaccesibilidad *in vitro* usando el método *PBET* propuesto por Ruby *et al.* (1993)¹⁵ en muestras recolectadas de jales y suelos contaminados por jales (Taxco); y en suelos contaminados por residuos minero-metalúrgicos (SLP).
- Correlación de forma cualitativa de las características de los suelos y jales con sus valores respectivos de bioaccesibilidad.
- Determinación de los valores de biodisponibilidad, en diferentes especies animales estudiadas, de las muestras investigadas utilizando las correlaciones reportadas en la literatura con los valores de bioaccesibilidad en fase gástrica.
- Realización de extracciones químicas simples con soluciones de acetato de amonio (NH_4OAc) 1 mol L⁻¹ amortiguada a pH 7, y con HCl a pH = 2, en ésta última haciendo variación de los tiempos de extracción.
- Comparación de las extracciones en fases gástricas e intestinales que se obtienen por el método *PBET* con las extracciones simples realizadas, y determinar si existen correlaciones.

1.6. Hipótesis

Las hipótesis que se plantearon fueron:

- La bioaccesibilidad absoluta correlacionará de forma cualitativa con uno o más parámetros fisicoquímicos y/o con la mineralogía en la cual residen los EPT estudiados. De esta forma, suelos que contengan minerales más insolubles de los EPT investigados producirán valores de bioaccesibilidad menores, y viceversa.
- Los resultados de bioaccesibilidad siguiendo el método sugerido por Ruby *et al.* (1993)¹⁵ se correlacionarán significativamente con la extracción simple realizada ya sea con ácido clorhídrico (HCl) a pH 2, o con acetato de amonio (NH_4OAc) 1 mol L⁻¹, amortiguada a pH 7.



2. MARCO TEÓRICO

2.1. Bioaccesibilidad

Una de las más importantes rutas de exposición a contaminantes ambientales para animales, incluyendo a los humanos, es por la vía de ingestión oral. La ingestión del suelo puede parecer un material extraño para incluirlo como un producto que puede ser consumido, pero no es el caso²: El consumo de suelos puede ocurrir con o sin intención. En el primer caso esto puede darse por motivos religiosos, medicinales, o como parte de la dieta regular⁴. En esta situación, el consumo intencional de suelo se llama geofagia.

La presencia de EPT persistentes en muestras vegetales puede resultar de la captura de estos contaminantes del suelo por parte de la planta. Debe recordarse que el consumo normal de alimentos por parte de los animales resulta en la ingesta de elementos esenciales como el Ca, Fe, Zn, etc., que son requeridos para las actividades metabólicas normales, así como de elementos no esenciales como el As, Cd o Pb que son tóxicos.

Es, por tanto, muy importante el ser capaces de evaluar la cantidad de EPT que están potencialmente disponibles para la absorción por medio del estómago y los intestinos (bioaccesible), o que pueda ser excretado. En esta parte del documento se discute sobre los métodos actuales que se usan para estudiar la bioaccesibilidad oral como parte de una estimación general en la evaluación del riesgo químico para los seres humanos al consumir diferentes de tipos de muestras. Los métodos disponibles para evaluar la bioaccesibilidad oral son con frecuencia descritos usando la terminología de extracción gastrointestinal *in vitro* (simulado) o la prueba de extracción con base fisiológica (*PBET*, por sus siglas en inglés).

Finalmente, estos valores de biodisponibilidad oral o bioaccesibilidad de EPT del suelo son excelentes indicadores del grado de biodisponibilidad por otros medios, como la absorción desde la solución acuosa por parte de plantas y organismos que habitan en éste y, en últimos términos, sobre el potencial de lixiviación y contaminación de mantos freáticos para el consumo humano de agua potable.

2.1.1. Introducción a la fisiología humana

La Figura 2.1.1.1 muestra un diagrama del aparato digestivo humano y sus órganos asociados. El tracto digestivo de los humanos tiene dos extremos: los alimentos ingresan por la boca y los restos salen por el ano².

Se pueden identificar ocho procesos que ocurren en el tracto gastrointestinal, que son^{2, 17}:

- Boca. Degradación inicial del alimento en presencia de saliva.
- Esófago. El alimento ingerido es transportado hacia el estómago por contracción muscular (peristalsis).
- Estómago. Se almacenan los alimentos ingeridos, se inicia la digestión de proteínas y luego se transportan los alimentos al duodeno. Las células en las paredes del

estómago secretan pepsinógeno y ácido clorhídrico ($\text{pH} < 2$). La presencia del ácido clorhídrico tiene las funciones de (i) desnaturalizar las proteínas, y (ii) Formar la enzima pepsina a partir del pepsinógeno, que es más activa a $\text{pH} 2$. La pepsina dentro del estómago puede parcialmente digerir las proteínas. Los hidratos de carbono y las grasas no son digeridos en el estómago.

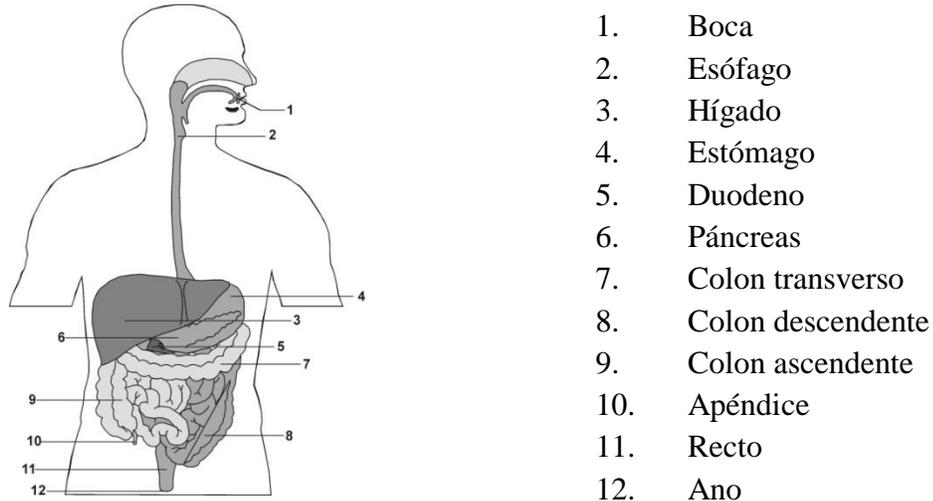


Figura 2.1.1.1. Sistema digestivo humano, incluye el tracto gastrointestinal y los órganos digestivos asociados¹⁷

- Intestino delgado. Compuesto por: el duodeno, el yeyuno y el íleon. Estas partes del intestino delgado contienen varias enzimas como: la enteroquinasa, que activa a la tripsina (secretada por el páncreas), enzima que se encarga de digerir las proteínas. El intestino delgado es el sitio principal en donde los productos alimenticios son absorbidos, incluyendo las grasas, los hidratos de carbono, las proteínas, las vitaminas, los elementos como Ca y Fe, el agua y los electrolitos.
- Hígado y vesícula biliar. El hígado tiene un efecto regulador en la composición química de la sangre, produce y secreta bilis que es almacenada en la vesícula biliar antes de ser liberado en el duodeno. La bilis está compuesta por: sales biliares ,principalmente ácido cólico y ácido quenodeoxicólico; pigmentos de la bilis (bilirrubina); fosfolípidos (lecitina); colesterol e iones inorgánicos como Na^+ , K^+ , Cl^- y $(\text{CO}_3)^{2-}$.
- Páncreas. Esta glándula secreta jugos pancreáticos al duodeno. Los jugos pancreáticos contienen agua, bicarbonato y una variedad de enzimas digestivas como la amilasa (que digiere almidón), tripsina (digiere proteína) y lipasa (digiere triglicéridos).
- Intestino grueso o colon. En este órgano se produce la absorción de agua y los electrolitos de los alimentos.

-
-
- Defecación. Después de la absorción del agua y electrolitos, el material de desecho pasa al recto. El aumento de la presión rectal, debido a la acumulación del material de desecho, nos lleva a la necesidad de defecar. En este punto, los productos de desecho pasan a través del canal anal y salen por el ano.

2.1.2. Consideraciones en el diseño de un método gastrointestinal *in vitro*

El objetivo de la metodología de extracción *in vitro*, es la de simular los procesos importantes que ocurren en el tracto gastrointestinal para evaluar la bioaccesibilidad oral². Las áreas de aparato digestivo humano que se han identificado y son importantes para el diseño del proceso de extracción son:

- 1) Boca. En este compartimiento en donde se realiza la molienda mecánica de los alimentos (a pH de 6.5). Los alimentos son masticados, permitiendo desglosarlos en fragmentos más pequeños e incrementando su área superficial. Este proceso de pocos segundos a unos cuantos minutos, siendo luego el alimento transportado hacia el estómago.
- 2) Estómago. El medio ácido del estómago se debe al ácido clorhídrico presente (pH de 1 – 5), permitiendo la disolución de óxidos minerales lábiles, sulfuros y carbonatos, provocando la liberación de metales. La presencia de pepsina degrada las proteínas, ayudando a la disolución de los alimentos. Todo el proceso estomacal puede durar de unos pocos minutos hasta algunas horas (aproximadamente 8 min a 3 h).
- 3) Intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleon). Las muestras son sujetas a digestión en el fluido intestinal, compuesto por enzimas (tripsina, pancreatina y amilasa), sales biliares y bicarbonato. El proceso de absorción tiene lugar mayormente en el intestino delgado donde la digestión final sucede. Las muestras pueden ser retenidas en el intestino delgado así: en el duodeno de 30 a 45 min a pH, entre 4 y 5.5; en el yeyuno de 1.5 a 2 h, entre 5.5 y 7.0 unidades de pH; y en el íleon de 5 a 7 h, a pH de 7 a 7.5.

2.1.3. Fundamentos para el uso de las pruebas *in vivo* e *in vitro*

Las guías cuantitativas para la evaluación de riesgos están asociadas con algunos problemas científicos. Existen dificultades para establecer las concentraciones de contaminantes más allá de cuáles son los riesgos aceptables a la exposición a estos contaminantes. Esto requiere de información científica sobre los efectos en la salud (efectos toxicológicos), y además de un elemento de juicio sobre qué riesgo es inaceptable. También se debe considerar que los suelos son solamente una de las fuentes de exposición a contaminantes; que sus efectos y el costo de tratar con éste, necesita mantenerse en proporción con la exposición total a contaminantes desde todas las fuentes⁵.

Pautas simples de usar que sean generalmente aplicables son necesarias. Sin embargo, en el caso de la calidad del suelo, esto es particularmente difícil tomando en cuenta la variedad

de tipos de suelos y las condiciones particulares del sitio, así como la variedad de contaminantes, especies contaminantes y mezclas contaminantes. Se requieren suposiciones complejas para establecer la relación entre la concentración del contaminante del suelo y el efecto en la salud humana o en otro receptor de relevancia. Todos estos criterios hacen difícil derivar un criterio general aplicable. Asumir el “peor de los casos” puede ser usado con precaución para superar algunos problemas, pero esto puede resultar en criterios que son impracticables. En la evaluación de riesgos para la salud humana, hay tres importantes rutas de exposición para un contaminante presente en el suelo y que se citan en orden de importancia¹⁸: (i) la ingestión oral, (ii) la dérmica, y (iii) la respiratoria.

El que un suelo contaminado represente un riesgo para la salud humana depende del potencial del contaminante para dejar el suelo y entrar en el torrente sanguíneo humano. El uso de la concentración total del contaminante en el suelo proporciona una aproximación conservadora al suponer que todo el contaminante presente en el suelo puede entrar en el torrente sanguíneo. Los resultados de las evaluaciones en animales sugieren que los contaminantes en una muestra de suelo pueden ser absorbidos en mucha menor extensión y mostrar muy pocos efectos tóxicos comparados con la misma concentración de sales solubles del contaminante en un alimento o matriz líquida¹¹.

En muchos casos no hay distinción entre el captar contaminantes que están unidos al suelo y aquellos que se encuentran como un vapor o son liberados durante procesos como digestión en solución (la llamada fracción bioaccesible)⁵. Por ejemplo, los niños pueden ingerir suelo contaminado con As, al llevarse suelo a la boca con las manos sucias o juguetes sucios, de forma deliberada o accidental.

Estudios empíricos han buscado una relación entre el tipo de contaminante del suelo y la fracción de arsénico que puede ser disuelta por digestión¹⁹. Hay una clara necesidad de una metodología práctica capaz de medir la fracción del contaminante en el suelo que, por ingestión oral, pueda ingresar en el sistema circulatorio del cuerpo humano y tener efectos nocivos. A esta metodología se le conoce como la biodisponibilidad oral y se le define como la fracción de una dosis administrada que alcanza el compartimento central (sangre) del tracto gastrointestinal¹⁸. Este término no debe ser confundido con la bioaccesibilidad oral de una sustancia, que se define como la fracción que es soluble en el medio gastrointestinal y está disponible para la absorción¹⁸, es decir, la fracción biodisponible establece cuánto de la fracción bioaccesible es capaz de alcanzar el sistema circulatorio al ser absorbido por las paredes del tracto gastrointestinal. Existen otras definiciones de bioaccesibilidad que toman en cuenta todos los límites primarios, por ejemplo, piel, pulmones y tracto gastrointestinal²⁰. Sin embargo, para este documento, únicamente la vía por ingestión oral es la que se considera.

Los resultados de biodisponibilidad están principalmente relacionados con la cantidad de contaminante en el torrente sanguíneo animal/humano, los datos son obtenidos de la dosificación de animales con suelo contaminado y la posterior medida del contaminante en

la sangre u órganos del animal; estos son conocidos como modelos *in vivo* con animales para determinar la biodisponibilidad de contaminantes. Cuando se realizan ensayos con animales, son necesarios estudios adicionales para determinar cómo la biodisponibilidad animal puede ser relacionada con la biodisponibilidad humana⁵. Animales con características similares a los humanos del tracto gastrointestinal, como cerdos jóvenes para niños, son los preferidos y se ha demostrado que poseen analogías razonables^{8,9}. Pruebas de dosificación *in vivo* han sido usadas en una variedad de especies animales como ratas y ratones. En este tipo de pruebas, se conoce la cantidad de contaminante que es agregado a la comida de las especies que son probadas, en forma de sales solubles o materiales contaminados. Los animales de prueba son dosificados simulando patrones de alimentación intermitentes. Regularmente se extraen muestras de sangre y orina antes de la muerte de la especie y posterior necropsia de cerebro, corazón, hígado, pulmones y los tractos gastrointestinal y urinario, los cuales son removidos para el análisis⁵.

Sin embargo, los datos de bioaccesibilidad son normalmente determinados en un tubo como ambiente de prueba (*in vitro*) y representa la cantidad de contaminante disuelto en el tracto gastrointestinal previo a cruzar las paredes mucosas⁵. La cantidad de contaminante que es realmente absorbido por un organismo es generalmente mucho menor o igual que la cantidad que es solubilizada¹⁸. Las pruebas de bioaccesibilidad por extracción están generalmente basadas en torno a parámetros gastrointestinales de niños de 0 a 3 años de edad. Se piensa que este grupo de edad es el de mayor riesgo de ingestión accidental de suelo. También de que los niños pueden absorber mucho mayor porcentaje de contaminante a través del sistema digestivo que los adultos; por tanto, ellos son más susceptibles a mostrar efectos adversos en la salud²¹.

La determinación de la biodisponibilidad de metales y metaloides de un número de medios sólidos ha sido realizada durante periodos de años, en algunas especies animales. Las pruebas para evaluar la biodisponibilidad dosificando mamíferos son costosas y el tiempo para realizarlas es demasiado largo. Por otro lado, ninguna de las pruebas *in vivo* usando modelos animales han sido validados contra estimaciones de absorción de metales en niños y adultos, debido a la variabilidad de la naturaleza tóxica de los metales de interés, de ahí que los datos de cada prueba sean difíciles de interpretar⁵. La única prueba completada en humanos registrada hasta la fecha es un estudio de la biodisponibilidad oral de plomo²². En este estudio se usaron medidas isotópicas para estudiar captura de plomo en la sangre de adultos dosificados con suelo de un jardín residencial en un área contaminada por actividad minera.

Los resultados de los análisis de estos sujetos indicaron que, en promedio, el 26.2% del Pb total en el suelo fue llevado al sistema circulatorio. De los seis individuos adicionales que ingirieron suelo inmediatamente después de un desayuno estandarizado se encontró que absorbieron solamente el 2.52% del plomo total en el suelo²². Una consecuencia de la falta de pruebas en modelos humanos es que los modelos animales usados hasta la fecha pueden

producir estimaciones de biodisponibilidad que son diferentes a los producidos en humanos¹⁹.

Para evitar el uso de animales en la determinación de la biodisponibilidad de EPT para la salud humana o para estimar la biodisponibilidad donde estudios animales no están disponibles, una alternativa potencial es el uso de las pruebas *in vitro*. El uso de esta técnica *in vitro* puede proporcionar una medida conservadora de la biodisponibilidad y los resultados pueden ser usados para predecir la bioaccesibilidad oral de metales, también puede proporcionar una metodología rápida y significativamente menos costosa para determinar la cantidad de contaminante que puede ser disuelto del suelo contaminado por los jugos del tracto digestivo⁵.

Varias pruebas *in vitro* han sido usadas para evaluar el grado de solubilidad de un metal en el medio simulado gastrointestinal imitando la lixiviación de una muestra sólida²³. Predecesores de cada sistema fueron originalmente desarrollados para evaluar la bioaccesibilidad del hierro en alimentos para estudios de nutrición²⁴. Los procesos gastrointestinales son complejos y difíciles de simular. Las técnicas *in vitro* han usado tradicionalmente varias sales de metales o suelos que son incubados a pH bajo por un período de tiempo intentando imitar las condiciones en el intestino delgado. Enzimas y ácidos orgánicos son usados para simular el fluido estomacal y del intestino delgado⁵.

Los protocolos de las pruebas *in vitro* son usados para predecir, pero no proporcionan datos de biodisponibilidad absoluta. Esto puede hacerse en la actualidad con el uso de técnicas *in vivo*. Como el costo y el tiempo requerido para realizar la técnica *in vitro* son menores en comparación con los métodos *in vivo*, un gran número de suelos pueden ser evaluados para caracterizar completamente un sitio.

Las aplicaciones de los métodos de extracción gastrointestinal para evaluar la bioaccesibilidad de metales en muestras de suelos y alimentos son variadas y se han estudiado una amplia gama de metales como Al, As, Cd, Ce, Cu, Fe, Hg, Mg, Pb, Se y Zn².

2.1.4. Desarrollo de un método gastrointestinal *in vitro*

Basados en el diseño del tracto gastrointestinal humano, el desarrollo de un método de simulación gastrointestinal *in vitro* debe tener las siguientes características²:

- Temperatura. Las extracciones se deben ajustar a los 37°C de temperatura del cuerpo humano.
- Agitación. Simulación del movimiento peristáltico del esófago.
- Compartimiento estomacal. En el que las muestras son sometidas a reacción con pepsina y ácido clorhídrico a pH de 1 – 4 por aproximadamente 3 h.
- Compartimiento intestinal delgado. Aquí las muestras son sujetas a la acción de los fluidos intestinales a pH de 4 – 7.5 aproximadamente por 7 h.

El compartimiento bucal es opcional, debido al corto período de tiempo que los alimentos pasan en la boca; este punto puede no ser tan importante como el estomacal y el intestinal. Si se incluye, la muestra debe ser sometida a saliva a pH 6.5 por aproximadamente 2 min².

Las composiciones químicas de la saliva, fluido gástrico, fluido duodenal y de la bilis se presentan en la Tabla 2.1.4.1.

Tabla 2.1.4.1. La composición química de la saliva, fluido gástrico, fluido duodenal y de la bilis²

Fluido	Constituyente orgánico	Concentración (mg L ⁻¹)	Constituyente inorgánico	Concentración (mg L ⁻¹)
Saliva	α-amilasa	145	KCl	895
	Mucina	5	KSCN	200
	Urea	200	Na ₂ SO ₄	570
	Ácido úrico	15	NaCl	290
			NaH ₂ PO ₄	885
Gástrico	Clorhidrato de glucosamina	330	CaCl ₂	200
	Glucosa	650	HCl	1380
	Ácido glucurónico	20	KCl	820
	Mucina	1500	NaCl	2750
	Ácido N-acetilneuramínico	50	NaH ₂ PO ₄	270
	Pepsina de porcino	1000	NH ₄ Cl	305
	Albumina sérica de bovino	1000		
	Urea	85		
Duodenal	Lipasa	500	CaCl ₂	200
	Pancreatina	3000	KCl	560
	Albumina sérica de bovino	1000	KH ₂ PO ₄	80
	Ácido esteárico	5	MgCl ₂	50
	Urea	100	NaCl	7010
			NaHCO ₃	1800
Bilis	Bilis de pollo	3000	CaCl ₂	220
	Albumina sérica de bovino	1800	KCl	370
	Urea	250	NaCl	5250
			NaHCO ₃	4200

En la realidad, es común practicar el uso de una combinación simple de compuestos químicos, incluyendo iones inorgánicos y enzimas. En adición, se han identificado las variables importantes que existen en los métodos gastrointestinales *in vitro*, y son los siguientes²⁵:

-
-
- 1) Relación muestra:solución. Esta puede variar de 1:2 a 1:150 (g:mL).
 - 2) Agitación y tiempo de incubación. Con la finalidad de simular la agitación gastrointestinal, se ha usado la agitación en baño de agua, mecánica, dispersión con gas argón, agitación horizontal o movimiento peristáltico. Las muestras se agitan por diferentes períodos de tiempo; para la extracción con los jugos gástricos entre 1 a 4 h, mientras que de 1 – 5 h de incubación se usan en la extracción con los jugos intestinales.
 - 3) Adición de componentes alimentarios. Leche en polvo o en crema puede ser agregada a los jugos gástricos sintéticos para simular la influencia de los alimentos en la movilización de los contaminantes y ser más representativo de la digestión humana.
 - 4) Compartimiento bucal (paso opcional). Como el pH de la saliva está estrechamente cercano a la neutralidad, la inclusión del compartimiento bucal en cualquier modelo no se espera que facilite significativamente la disolución de los alimentos.
 - 5) Jugos gástricos. La enzima importante involucrada en la extracción de los jugos gástricos consiste de una solución que contiene pepsina en el intervalo de concentración $1.25 - 10 \text{ mg mL}^{-1}$. La enzima se prepara en una solución diluida de ácido clorhídrico con un pH que varía entre 1.1 y 4.0.
 - 6) Jugos intestinales. Las principales enzimas usadas en el jugo intestinal son la pancreatina y las sales biliares. La pancreatina es una mezcla de lipasa, proteasa y amilasa. La adición de las sales biliares ayuda a la disolución de las grasas y en la absorción en el intestino delgado. El pH del jugo intestinal se mantiene en el intervalo de 5.0 a 8.0.
 - 7) Análisis de los extractos *in vitro*. El escoger una técnica de análisis, y de algún método de pre-tratamiento de la muestra necesario para medir el contenido de EPT de cada paso de extracción simulado podría influenciar en los datos reportados, por ejemplo: la necesidad de usar los estándares correctos para la calibración al usar la técnica conocida por sus siglas en inglés como *ICP-AES*.

2.1.5. Validación de las mediciones de bioaccesibilidad

En la actualidad existen varias metodologías *in vitro* disponibles para evaluar, en animales, la bioaccesibilidad de EPT de muestras de suelo y alimentos^{2, 5}, pero los resultados generalmente no son comparables entre métodos, particularmente cuando estos métodos son aplicados por laboratorios diferentes. Por tanto, se requieren más datos cuantitativos para comprobar la validez y robustez de los diferentes métodos.

Un material certificado de referencia (*CRM*, en inglés) necesita ser producido y validado para permitir a los usuarios comparar los datos de los diferentes métodos, así como proporcionar material para el control de la calidad. El primer *CRM* para la prueba de bioaccesibilidad de metales ha sido preparado en el Reino Unido por la entidad conocida

como British Geological Survey. Este *CRM* proporciona información de elementos bioaccesibles y totales para un amplio intervalo de elementos, incluyendo As, y puede ser usado en el control de la calidad de las pruebas de bioaccesibilidad²⁶.

2.1.6. Correlación *in vivo* e *in vitro*

Las evaluaciones *in vitro* son simples, rápidas, baratas y numerosos métodos han sido aplicados para determinar la bioaccesibilidad de varios EPT. Sin embargo, antes de que estas evaluaciones puedan entrar como un sustituto de las medidas de la biodisponibilidad relativa, una correlación entre la bioaccesibilidad *in vitro* y la biodisponibilidad *in vivo* es un prerequisite obligatorio para su aceptación regulatoria y científica²⁷. Un limitado número de estudios han establecido la relación entre la bioaccesibilidad y la biodisponibilidad encontrándose trabajos realizados con As, Cd y Pb.

En un intento por evaluar la idoneidad de las evaluaciones *in vitro* para determinar la biodisponibilidad relativa del As, un limitado número de estudios han comparado la variabilidad de los valores de bioaccesibilidad derivados usando diferentes evaluaciones *in vitro*. Oomen *et al.* (2002)²³ compararon los valores de bioaccesibilidad determinados usando cinco métodos *in vitro* para dos suelos contaminados y un suelo de referencia. Las bioaccesibilidades de As variaron significativamente entre los métodos para todos los suelos.

Aunque los parámetros para cada método *in vitro* variaron (composición química, relación suelo:solución, tiempo de residencia), Oomen *et al.* (2002)²³ propusieron que la disparidad en los valores de bioaccesibilidad se debieron a las diferencias en el pH gástrico de cada método. Sin embargo, una limitación de este estudio fue que la bioaccesibilidad del As no pudo ser comparada a la biodisponibilidad del As debido a la falta de datos *in vivo* para estos suelos. Juhasz *et al.* (2009a)²⁷ compararon las fases gástricas e intestinales de cuatro métodos de bioaccesibilidad *in vitro* y la biodisponibilidad relativa de As medida por un método *in vivo* realizado en cerdos. La comparación de los resultados *in vivo* e *in vitro* indicaron que la correlación entre la bioaccesibilidad y la biodisponibilidad relativa del As varía dependiendo del método usado. No obstante, todos los métodos *in vitro* podrían predecir la biodisponibilidad relativa *in vivo* del As con diversos grados de confianza. Finalmente, esta referencia presenta dos ecuaciones lineales que permiten relacionar a la biodisponibilidad relativa del As con las extracciones en FG y FI del método *PBET* que son²⁷:

$$\%BD = [1.162 \%BAG] + 10.096 \quad (2.1.6.1)$$

$$\%BD = [1.762 \%BAI] + 5.682 \quad (2.1.6.2)$$

donde %BD es la biodisponibilidad relativa *in vivo* del As; %BAG es la bioaccesibilidad porcentual del As en FG y %BAI es la bioaccesibilidad porcentual del As en la FI.

Para el caso del Cd, Juhasz *et al.* (2010)¹⁶ realizaron el mismo estudio anterior usando varios métodos de extracción de Cd y la biodisponibilidad relativa *in vivo* del Cd evaluada

en ratones. Para la comparación, los análisis fueron realizados usando los valores calculados de biodisponibilidad relativa del Cd usando las concentraciones de Cd en riñones, hígado y los riñones más el hígado de la especie evaluada. En este estudio se encontraron fuertes correlaciones entre las concentraciones de los fluidos del método *PBET* y los órganos de los ratones evaluados. Sin embargo, las más fuertes correlaciones se dieron entre las fases gástrica e intestinal con las concentraciones en riñones más hígado ($r = 0.865$ y 0.914 , respectivamente), proponiendo las siguientes ecuaciones¹⁶:

$$\%BD = [0.778 \%BAG] - 14.795 \quad (2.1.6.3)$$

$$\%BD = [1.091 \%BAI] - 5.140 \quad (2.1.6.4)$$

Ruby *et al.* (1996)²⁰ realizaron la comparación de la bioaccesibilidad porcentual del Pb con la biodisponibilidad del Pb evaluado en ratas. El método *PBET* proporcionó resultados consistentes a lo largo de un amplio intervalo de valores de pH y fue sensible para diferentes tipos de materiales que tienen Pb, como se refleja en la capacidad de la prueba para predecir exactamente diferentes valores de biodisponibilidad de Pb medidos en ratas. La aplicación de los datos *PBET* a un estomago a pH = 2.5 en una regresión lineal, arrojaron resultados que predicen la biodisponibilidad relativa del Pb en ratas ($r^2 = 0.93$, $n = 7$). Basados en esta correlación lineal, los datos de *PBET* pueden ser usados para estimar la biodisponibilidad relativa del Pb en ratas usando la siguiente ecuación²⁰:

$$\%BD = [1.4 BDG] + 3.2 \quad (2.1.6.5)$$

Ruby *et al.* (1996)²⁰ mencionan que la biodisponibilidad relativa del Pb evaluada en ratas puede ser usada para estimar la biodisponibilidad absoluta en niños, basados en la premisa de que la biodisponibilidad del Pb de una sustancia de prueba relativa para Pb soluble (PbOAc) es similar, tanto en ratas como en niños. Juhasz *et al.* (2009a)²⁷ mencionan que las evaluaciones *in vivo* en una gran variedad de animales (primates, cerdos, perros, conejos, ratas, ratones, etc.) han sido usadas para cuantificar la biodisponibilidad de EPT en suelos, debido a sus similitudes a los humanos en: metabolismo de los EPT, requerimientos nutricionales, desarrollo óseo y, además, porque los cerdos inmaduros son considerados apropiados sustitutos para la evaluación de la biodisponibilidad relativa de EPT para estimar el riesgo para la salud humana²⁷. También mencionan que pese a encontrar estas correlaciones, se requieren análisis adicionales para un gran número de tipos de suelo y cargas contaminantes para validar la metodología previa a la adopción de reglamentos para evaluar los riesgos a la salud humana por la exposición.

2.2. Extracciones simples usadas en la evaluación del comportamiento de los EPT

Los resultados variables y a veces contradictorios a los que llegan diferentes investigadores ponen en evidencia los muchos y complejos factores que influyen en la bioaccesibilidad de los EPT en una muestra (por ejemplo, elemento investigado, granulometría y mineralogía de la muestra, contenido de carbono orgánico, modo de retención, origen

natural o antropogénico, relación muestra:solución de extracción en el procedimiento de digestión, etc.). Esta variabilidad de resultados es también una consecuencia de la disparidad de los protocolos de extracción empleados y las dificultades analíticas asociadas con algunas de ellas, especialmente con aquellas que intentan recuperar las fracciones gástrica e intestinal del total de contaminante cargado en la muestra sólida. Estas dificultades analíticas – que incluyen los largos tiempos de extracción, gran número de reactivos inestables, concentraciones cercanas o por debajo del límite de detección – han llevado a la mayoría de los investigadores a hacer uso de protocolos simples de extracción de la fase gástrica (FG) más que una metodología completa ²⁸.

Los dos problemas principales asociados con la aplicación rutinaria de la prueba *PBET* son: que es relativamente costosa de realizar y que el tiempo de reporte de resultados puede ser del orden de dos semanas o más. El uso de este método no es el ideal si se necesitan evaluar grandes áreas de tierra y cuando las decisiones sobre el impacto en la salud de ese sitio en particular son requeridas rápidamente ²⁹. En el estudio realizado por Ruby *et al.* (1993)¹⁵ para la bioaccesibilidad de Pb, se ha determinado que el ácido clorhídrico (HCl) es el componente más importante del tracto gastrointestinal que controla la disolución del Pb en la FG, y que en la fase intestinal (FI) la re-adsorción, co-precipitación, y procesos de complejación son debidos al incremento del pH con bicarbonato de sodio.

La identificación de estos dos compuestos ayudó a tomar la decisión sobre las soluciones extractantes que se podrían investigar como posibles sustitutos en este trabajo. Las soluciones escogidas fueron el ácido clorhídrico hasta un ajuste de pH a 2 al mezclarla con la muestra, y una solución de acetato de amonio (NH₄OAc) 1 mol L⁻¹ amortiguada a pH 7.

2.2.1. Ácido clorhídrico

Aunque una prueba de extracción completa como la *PBET*, que reproduce las condiciones gástricas e intestinales, “reflejan” la biodisponibilidad *in vivo* de los EPT en los suelos más exactamente que los métodos de extracción realizando sólo la extracción gástrica, éstos son protocolos analíticos caros y que consumen tiempo. En la literatura poden encontrarse variados métodos en los que usan soluciones de HCl como agente extractante. La extracción con HCl para Pb y Zn es muy eficiente ³⁰. Le Bot *et al.* (2010)³¹ realizan una extracción con HCl 1.4% según la norma francesa AFNOR NFX46-032 en la que se describe la metodología para medir Pb en polvos de suelo y partículas de pinturas pero, al parecer, suponen que las muestras sometidas a este tratamiento alcanzan el pH de 1.5 aproximadamente. Este método tiene como ventaja que es simple, barato, reproducible y fácil de implementar para investigaciones de rutina.

Yang *et al.* (2009)³² usan un método en el que a 5 g de muestra se le adicionan 25 mL de soluciones de HCl de diferentes concentraciones y en cuyo estudio también investigan la influencia de la relación suelo:solución. Con respecto al efecto de la concentración del agente extractante usado mencionan que la remoción de los metales se incrementa con la

concentración del agente extractante. En general, la remoción de As de los suelos por extractantes puede involucrar: oxidación/disolución del As enlazado a sulfuros (arsenopirita); disolución reductiva del As enlazado a los óxidos de Fe; disolución ácida de los óxidos de Fe/Al/Mn que contienen As; y desorción del As de los óxidos de Fe/Al/Mn por intercambio ion/ligante³⁰. Mingot *et al.* (2011)²⁸ usa una versión modificada del método propuesto por Rasmussen *et al.* (2008)³³ en la que 0.05 g de muestra de suelo con partículas menores a 100 μm fueron sometidas a extracción con 50 mL de HCl 0.07 mol L⁻¹ (pH = 1.5 ajustado con HCl) por 1 h a 37 °C. En este estudio, realizado en suelos de áreas de recreación, se encontró que la extracción de As con HCl correlaciona fuertemente con la extracción siguiendo el método *PBET* ($r = 0.825$)²⁸.

Thums *et al.* (2008)³⁴ también hace uso de un método simple de extracción para su estudio de As en suelos de áreas urbanas, en la que una solución de HCl 0.12 mol L⁻¹ es agitada con suelo en una relación 10:1 ácido:suelo a temperatura ambiente por dos horas. Hace uso de este método ya que se aproxima a la fracción extraída en el intestino grueso del ser humano³⁴. Los autores definen a la extracción de metales con HCl 0.1 mol L⁻¹ como aquellos operacionalmente liberados por un moderado ataque ácido³⁵. Extracciones similares se sugieren para medir los metales geoquímicamente activos. El término activo implica las interacciones con los sólidos del suelo que controlan las concentraciones en solución³⁶.

2.2.2. Acetato de amonio

Existen diversos estudios realizados en los que se evalúa la adsorción de EPT sobre las partículas de los suelos y sedimentos como los minerales de arcilla, óxidos hidratados de Fe y Mn o los ácidos húmicos, todos estos estudios con diferentes grados de concentración y amortiguamiento a diferentes valores de pH. El problema de acidificar las muestras durante la extracción es la posibilidad de que pueda solubilizar también la parte de la fracción carbonatada³⁷. Con este método se pueden extraer EPT enlazados débilmente por medio de interacciones predominantemente electrostáticas³⁵.

El uso de NH₄OAc 1 mol L⁻¹ como extractante se realiza para evaluar las bases intercambiables. La solución puede estar amortiguada a pH 7 para evitar la disolución de los carbonatos en estudios ambientales³⁶.

Los elementos extraídos con NH₄OAc representan a la fracción más fácilmente biodisponible en un suelo contaminado y pueden por tanto presentar un riesgo para el ambiente^{38,39} y para la diferenciación del origen litogénico y antropogénico de EPT en los suelos³⁹.

2.3. Esencialidad y toxicidad (Riesgo para los humanos)

Los organismos han desarrollado su bioquímica interna en estrecha conexión con la composición química del ambiente natural. Los seres humanos, así como todos los

animales, a diferencia de los procariotas y otros organismos más bajos, no son capaces de adaptarse fácilmente a algún cambio en la composición química de sus alrededores. Los suelos son la principal fuente de elementos traza para las plantas como micronutrientes y como EPT². Se ha estimado que el 25% de las enfermedades del género humano son debidas a la exposición prolongada a algún tipo de contaminación ambiental. Los cambios en las concentraciones de elementos traza son especialmente de vital importancia. Las relaciones iónicas dentro de cualquier organismo son muy frágiles y gobernadas por varios factores. Su balance está controlado por factores como la biodisponibilidad de un elemento, la capacidad de los tejidos u órganos para acumular y excretar un elemento, y por las interacciones entre elementos que podrían variar desde antagónicos a sinérgicos dependiendo principalmente de sus relaciones cuantitativas³.

Los elementos traza, aquellos de funciones fisiológicamente vitales y los no esenciales, cumplen papeles fundamentales en el desarrollo normal y saludable de un organismo. Las funciones de la mayoría de los elementos traza se dan en procesos metabólicos y de crecimiento. Los elementos Cu, Zn, y Fe son especialmente esenciales para la actividad fisiológica de importantes enzimas, en las que funcionan como catalizadores⁴⁰.

Las anomalías geoquímicas de la roca madre, los parámetros variables del suelo, prácticas agrícolas, y la contaminación antropogénica influyen en los contenidos de elementos traza de los cultivos de alimentos y otras plantas, resultando en la ingesta de elementos traza^{2, 3}. Enfermedades y/o alteraciones en el metabolismo, atribuidos a la deficiencia o exceso de elementos traza, a veces no son fáciles de evaluar, especialmente en etapas tempranas de desarrollo. Por otra parte, con frecuencia, los efectos de su suplemento desbalanceado pueden ser muy variables. En las Tablas 2.3.1 y 2.3.2 se presentan un breve resumen de las consecuencias del exceso de exposición a los elementos que se estudiaron en este documento. Adicionalmente, en la Tabla 2.3.1 también se muestran los problemas de la deficiencia de Cu y Zn que son micronutrientes.

Tabla 2.3.1. Consecuencias de la deficiencia y exceso de algunos elementos traza esenciales³

Elemento	Deficiencia	Exceso
Cu	Anemia y defectos en tejidos	Hepatitis necrótica, hemólisis, hiperglicemia
Fe	Anemia	Siderosis, hemocromatosis, fallas cardíacas
Mn	Deformación del esqueleto y cartílagos	Manganesismo, desórdenes neurológicos, cirrosis hepática
Zn	Anorexia, anemia, deterioro de la queratina	Anemia, lesiones de los tejidos

Tabla 2.3.2. Consecuencias del exceso de algunos elementos traza no esenciales³

Elemento	Síntomas de toxicidad
As	Osteomalacia, neurotoxicidad, demencia, posible agente del mal de Alzheimer
Cd	Cardiomiopatía, daño de riñón e hígado, gastroenteritis, neumonitis, osteomalacia, cáncer
Pb	Desorden del sistema nervioso, efectos hematológicos, daño de riñón, malestar intestinal, hipertensión

Los contenidos de metales traza en el cuerpo humano varían grandemente y son controlados por factores externos e internos. No existen muchos datos sobre la especiación elemental en fluidos/tejidos biológicos. De acuerdo con Cornelis y De Kimpe (1994)⁴¹ los elementos traza se pueden encontrar en una matriz compleja, como los fluidos biológicos, en varias formas: (i) iones simples (e.g., Br⁻, F⁻), (ii) compuestos quelados (e.g., citrato de Fe), y (iii) constituyente en metabolitos simples (e.g., As en el ácido monometilarsónico, etc.).

En un resumen sobre EPT en el tejido humano realizado por Ursinyova y Masanova (2005)⁴², mencionan que, en México, la leche materna tiene 61.8 µg L⁻¹ de Pb en promedio. La liberación del exceso de metales traza del cuerpo humano sigue los procesos fisiológicos normales³.

El riesgo de la exposición a ambientes contaminados es una de las mayores preocupaciones de las agencias reguladoras a nivel mundial, en este contexto, como contaminantes del ambiente se refiere a compuestos orgánicos, metales, metaloides, compuestos inorgánicos y otros (incluyendo asbestos). A la **exposición** se la puede definir como *“la cantidad de agente químico que está disponible para ser captado por una población objetivo en un sitio particular”*. La exposición a estos contaminantes ambientales se puede producir por una variedad de rutas. La exposición indirecta ocurre a través de la cadena alimenticia, incluyendo la captación de contaminantes por las plantas, seguido del consumo por animales y humanos. En este caso, la exposición puede ser continua para la mayoría de personas que incluyen en su dieta a carnes y vegetales².

La exposición se cuantifica como la concentración de un agente químico en el medio integrado (e.g., aire, agua o alimento) sobre la duración de la exposición. Ésta se expresa en términos de masa de una sustancia por kg de suelo, unidad de volumen de aire o litro de agua. Como la exposición para los humanos ocurre externamente, ésta se refiere como la dosis captada. La **dosis de captación** se define como *“la cantidad de un agente químico ingresado o en contacto con el cuerpo humano al punto de ingresar por ingestión, inhalación o contacto con la piel”*. La captación actual será una función de las características químicas y la naturaleza de la población objetivo y sus patrones de

comportamiento. La dosis de captación se expresa en términos de masa de sustancia por kg de masa corporal en un período de tiempo. Sin embargo, no todas las sustancias que son captadas por el cuerpo son absorbidas y, por lo tanto, es posible definir a la dosis captada como la cantidad de un contaminante que alcanza el sistema circulatorio habiendo sido absorbido por el cuerpo a través de la piel, el sistema gastrointestinal y el sistema respiratorio, expresado en términos de masa de la sustancia por unidad de volumen de sangre. En realidad, la dosis captada es normalmente la biodisponibilidad de un contaminante. La biodisponibilidad es, por lo tanto, la fracción del agente químico que puede ser absorbido por el cuerpo a través del sistema gastrointestinal, pulmonar y la piel².

2.3.1. Fuentes de exposición

La población general está expuesta a metales traza principalmente por ingestión de agua y alimento, y por inhalación de aire. El ingreso de elementos traza de varias fuentes se da por tres rutas de absorción:

- tracto gastrointestinal, desde: alimentos, agua, medicamentos, suelo y aerosoles
- tracto respiratorio, desde: aerosoles y gases
- piel, desde: suelo, agua, aerosoles, gases y otros

Toda ruta de exposición resulta finalmente en la absorción cruzando la membrana del cuerpo por difusión activa o pasiva y se puede depositar en tejidos específicos. Los órganos de tejido blando, especialmente el hígado y los riñones, son probablemente los que acumulen a la mayoría de los elementos traza. Las formas fácilmente disponibles de elementos son aquellos cuyos compuestos pueden ser disueltos por los fluidos corporales (i.e., tractos gastrointestinal y respiratorio)³.

El ingreso de elementos traza debido a la ingestión de suelo, ya sea involuntaria o deliberadamente puede ser significativa especialmente en niños y ya se han observado altas concentraciones de Pb en la sangre de niños debido a esta conducta infantil^{2,5}.

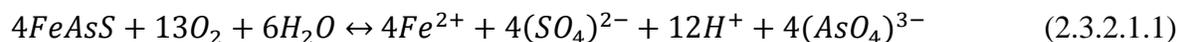
2.3.2. Generalidades de los elementos de estudio

En este punto se presenta una revisión de la literatura acerca del conocimiento que, en la actualidad, se tiene sobre cada uno de los elementos que son objeto de estudio en este documento. Se citarán generalidades, contenido de cada uno de ellos en los suelos, así como las especies minerales más comunes, especiación, contenido de estos metales en los seres humanos, entre otros.

2.3.2.1. Arsénico (As)

El As está ampliamente distribuido en el ambiente. La concentración de As está gobernada por la litología de la roca parental⁴³. Se encuentra en la corteza terrestre a niveles entre 0.5 y 2.5 mg kg⁻¹ y en sedimentos arcillosos está concentrado en hasta 13 mg kg⁻¹ en. El As se encuentra en la naturaleza con los estados de oxidación 1-, 3+ y 5+.

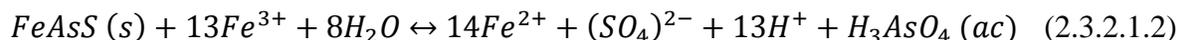
El As es liberado en los suelos debido al intemperismo de la arsenopirita (FeAsS) o de otros sulfuros minerales. La liberación de As de la arsenopirita involucra a la hidrólisis y la oxidación. El intemperismo de la arsenopirita en presencia de O₂ y agua involucra la oxidación de S²⁻ a (SO₄)²⁻ y As¹⁻ a As⁵⁺, teniendo lugar la siguiente reacción:



Una vez liberado del mineral, el As puede ser movilizado por diferentes procesos físicos así como químicos⁴³.

El As también se encuentra asociado con algunos minerales de metales al combinarse con otros metales como: domekita (Cu₃As), niquelina (NiAs), esperrilita (PtAs₂). Sus minerales más comunes son: arsenopirita (FeAsS), oropimente (As₂S₃), realgar (AsS), arsenolita (As₂O₃) y algunas otras formas polimorfas de minerales³. La loellingita (FeAs₂), safforlita (CoAs), niccolita (NiAs), rammelsbergita (NiAs₂), cobaltita (CoAsS), enargita (Cu₃AsS₄), gerdorfita (NiAsS), glaucodot [(Co,Fe)AsS] son otros minerales de As presentes en el ambiente⁴³. La arsenopirita puede ser fácilmente oxidada con O₂ y Fe³⁺. En ambientes extremadamente ácidos (pH ≈ 1.5) y una concentración de As de 10 mmol L⁻¹, el As precipita como escorodita (FeAsO₄·2H₂O). En condiciones ácidas (pH < 3), el As⁵⁺ puede sustituir al (SO₄)²⁻ en la estructura de la jarosita [KFe₃(SO₄)₂(OH)₆] en diferentes residuos de mina⁴³. Debido a la similitud de radio iónico, el comportamiento geoquímico del As⁵⁺ es muy similar al del P que es un nutriente importante, especialmente en fosfatos y de ahí su peligrosidad.

Las elevadas concentraciones de As, así como de otros metales como Cd, Cu, Fe, Pb, Ni y Zn son comúnmente encontradas en los efluentes ácidos de las minas. La principal fuente de As en los jales mineros es por la oxidación de la arsenopirita, que se inicia con la reacción anterior en presencia de oxígeno y prosigue con la reacción con el Fe(III), producto de la oxidación del Fe(II)⁴³:

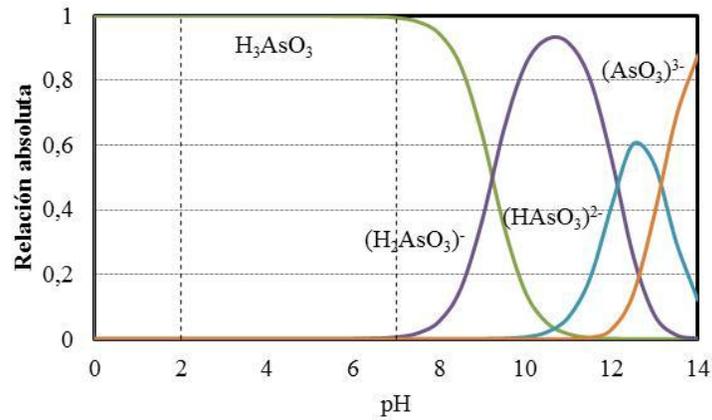


El As es generalmente recuperado de los lodos y polvos de chimenea durante la fundición de minerales de Cu, Zn, Pb, Au, y Ag que están normalmente enriquecidos de As.

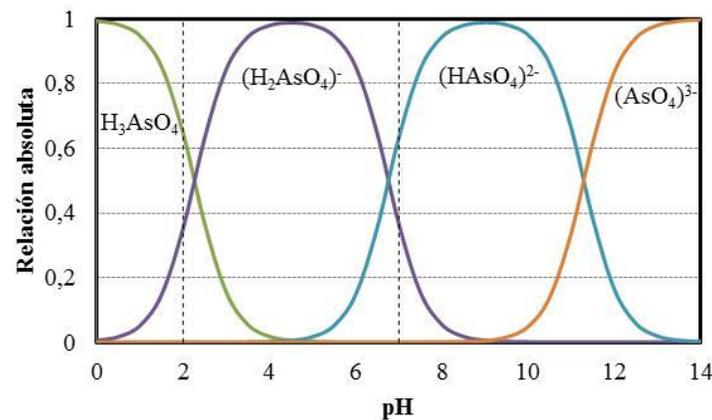
Köljonen (1992)⁴⁴ ha estimado que el contenido de As en suelos es de 5.0 mg kg⁻¹ a nivel global. Debido a la liberación de As de fuentes industriales y áreas mineras, su concentración en suelos puede alcanzar los 20000 mg kg⁻¹⁴⁵.

Bissen y Frimmel (2003)⁴⁶ citan que todas las propiedades del suelo, en especial el Eh-pH, influyen la capacidad de sorción del As. En los suelos y en aguas naturales el As está presente como un oxoácido triprótico débil. En medios reductores el ácido arsenioso (H₃AsO₃) es el que domina en un amplio intervalo de pH, mientras que la forma diprótica (H₂AsO₃)⁻ empieza a predominar a pH > 9. A valores de pH elevados y condiciones oxidantes, el As⁵⁺ está presente como (H₂AsO₄)⁻ (pH < 7.0) o como (HAsO₄)²⁻. Los

diagramas de distribución de especies a lo largo del pH para los dos ácidos de As^{3+} y As^{5+} se presentan en la Figura 2.3.2.1.1.



a)



b)

Figura 2.3.2.1.1. Diagrama de la distribución de especies para el (a) ácido arsenioso [H_3AsO_3] y (b) ácido arsénico [H_3AsO_4]. Las líneas punteadas a pH 2 y 7, indican los valores de pH de la FG y la FI, respectivamente, de la extracción *PBET*

La especiación del As en los suelos ha sido ampliamente revisada indicando que predomina en suelos ácidos en condiciones reductoras. La especie arsenito en contacto con el oxígeno del aire produce arseniato siguiendo la ecuación:



En el ambiente natural, la especiación de As cambia cualitativamente de acuerdo con las predicciones termodinámicas. En el sistema $\text{As} / \text{H}_2\text{O} / \text{O}_2$, las especies de As estables son H_3AsO_3 , $(\text{H}_2\text{AsO}_4)^-$, $(\text{HAsO}_4)^{2-}$, o $\text{As}(\text{s})$. Sin embargo, la presencia de S disuelto en el sistema, un intervalo de sulfuros de As ($[\text{AsS}_2]^-$, As_2S_3 , y HAS_2) son estables⁴³, tal como se muestra en la Figura 2.3.2.1.2.

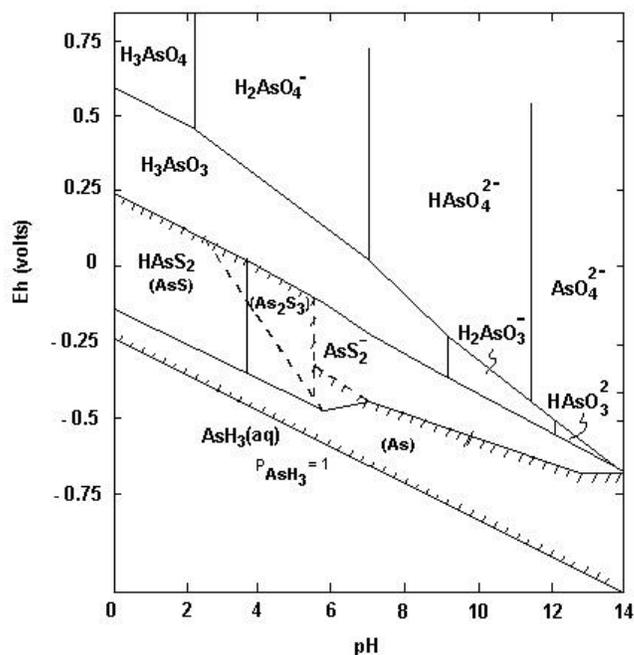


Figura 2.3.2.1.2. Diagrama Eh-pH para As a 25°C y 1 atm con una concentración de As total de 10^{-5} mol L⁻¹ y de S²⁻ total de 10^{-3} mol L⁻¹. Las especies sólidas están entre paréntesis en el área subrayada⁴⁷

El hidróxido férrico, Fe(OH)₃, juega un papel muy importante en el control de la concentración de los suelos así como en medio acuoso. La precipitación del Fe(OH)₃ sigue la reacción:



Esta reacción tiene importancia crítica en la retención y movilización del As en los suelos. El As⁵⁺ y As³⁺ son adsorbidos por el Fe(OH)₃, pero la afinidad de adsorción es más alta para el As⁵⁺. La adsorción de As³⁺ es óptima alrededor de pH 7, mientras que para al As⁵⁺ la adsorción óptima es a pH 4⁴³. La adsorción de As por Fe(OH)₃ puede ser solamente transitoria como los cambios en las condiciones redox (Eh) y pH, pudiendo resultar en la disolución de Fe(OH)₃ con la consecuente movilización del As. Los efluentes y aguas de los jales son tratados con cal para incrementar los niveles de pH, estabilizar la disolución del As y precipitar a otros metales⁴³. El As³⁺ es más tóxico y móvil en suelos que el As⁵⁺. Las formas aniónicas de este elemento, [AsO₂]⁻, [HAsO₄]²⁻, y [H₂AsO₃]²⁻ predominan en las soluciones de suelo³. Estas dos especies oxianiónicas pueden ser fácilmente sorbidas en minerales arcillosos y sobre oxohidróxidos de Fe y Mn, así como en compuestos orgánicos que pueden controlar de forma importante su comportamiento en los suelos. En suelos oxidados, el As⁵⁺ está inmóvil y co-precipita con el Fe(OH)₃, una fase mineral que se disuelve bajo condiciones reductoras moderadas a bajas (Eh = 0 – 0.1 V) y controla la

solubilidad de As^{5+} . Los complejos de As con P, Fe, Al, Ca, y Mn tienen un impacto significativo de su comportamiento en los suelos. En suelos ácidos, las formas dominantes son los compuestos Al-As y Fe-As mientras que en suelos alcalinos predominan las especies Ca-As.

Sarkar (2002)⁴³ menciona que a pesar de la alta afinidad de los suelos por el As, la cinética de retención de As por los suelos a niveles bajos de preocupación toxicológica puede ser muy lenta. Una encapsulación del As por otros precipitados puede ser el mecanismo de desintoxicación de los suelos.

El As se encuentra en el tejido de mamíferos en el intervalo de 10 a 500 $\mu\text{g kg}^{-1}$, siendo el más bajo en el corazón y el más alto en el hígado⁴⁸. Li (2000)⁴⁹ reporta concentraciones mucho más bajas en los tejidos blandos de humanos y estima que su promedio está en 3.6 $\mu\text{g kg}^{-1}$. En los fluidos humanos, las concentraciones medias de As son, en $\mu\text{g L}^{-1}$: 7.9 en sangre y 16.7 en orina⁵⁰. Sin embargo, se ha observado que en regiones contaminadas con As, las concentraciones de este elemento en tejido humano son mucho más altas.

Desde el siglo XIII, el As ha sido usado como medicamento y al mismo tiempo como veneno. Se sabe que el As es altamente tóxico para humanos y animales. Los oxianiones de As^{3+} y As^{5+} pueden provocar efectos toxicológicos similares, pero el As^{3+} es considerado más móvil y tóxico para los organismos vivos³.

La toxicidad del As puede provocar varios problemas de salud: los efectos mutagénicos, carcinógenos y teratógenos que afectan diferentes disfunciones: efectos neurológicos, males cardiovasculares, desórdenes respiratorios, hipertensión, diabetes mellitus, queratosis³.

La máxima ingesta diaria aceptable de As para una persona saludable es de 70 μg , de todas las fuentes⁵¹. Las actividades mano-boca pueden resultar en la ingesta de As entre 0.05 – 0.57 $\text{mg kg}^{-1} \text{ día}^{-1}$ para niños⁵². La exposición oral crónica de As por adultos al nivel más bajo en el que se observan efectos adversos (*LOAEL*, por sus siglas en inglés) es probablemente de alrededor de 10 – 20 $\mu\text{g kg}^{-1} \text{ día}^{-1}$ y que para el nivel en el que no se observan efectos adversos (*NOAEL*, por sus siglas en inglés) está entre 0.4 y 0.9 $\mu\text{g kg}^{-1} \text{ día}^{-1}$ ⁵².

2.3.2.2. Cadmio (Cd)

El contenido promedio de Cd está dado por la corteza terrestre como 0.1 – 0.2 mg kg^{-1} y su abundancia es bastante similar en rocas ígneas y sedimentarias. El Cd raramente está presente en forma pura en la naturaleza. Sus minerales más comunes son: greenockita (CdS), octavita (CdSe), y montepinita (CdO). Sus minerales huésped son minerales de Zn y Pb, esfalerita, biotita, y anfíboles. La esfalerita es su principal portador en procesos geoquímicos³.

El Cd y Zn tienen estructuras iónicas y electronegatividades similares, y pertenecen al grupo calcófilo. Sin embargo, el Cd tiene más fuerte afinidad por el S que el Zn y así su

movilidad en ambientes acidificados es más alta que la del Zn⁵³. Aunque el Cd tiene la misma valencia y un radio iónico similar al Ca, no sustituye al Ca en minerales³.

Durante los procesos de intemperismo, el Cd forma compuestos simples como: CdO, Cd(OH)₂, CdCl₂ y CdF₂ que son fácilmente móviles y siguen al Zn, especialmente en los procesos de sedimentación.

El Cd es considerado uno de los metales más ecotóxicos ya que provoca efectos adversos en todos los procesos biológicos de humanos, animales y plantas. Este metal muestra su gran potencial negativo al afectar al ambiente y a la calidad de los alimentos.

El Cd es producido principalmente como producto de la minería y refinado de Zn. Por lo tanto, su suministro es más dependiente de la producción de Zn que de la demanda de Cd^{43, 53}.

El promedio global de la concentración de Cd en el suelo se estima en el intervalo entre 0.06 y 1.1 mg kg⁻¹, con promedio de 0.5 mg kg⁻¹. En suelos no contaminados, sus contenidos están altamente gobernados por la textura del suelo y promedios de 0.22 a 0.51 mg kg⁻¹ en suelos ligeramente arenosos y francos duros, respectivamente⁷.

En la mayoría de suelos, el 99 % del Cd está asociado con los coloides del suelo, así buena porción está presente en la solución de suelo. El Cd puede formar algunos tipos de iones complejos y quelatos orgánicos. Sus concentraciones en el suelo pueden variar, dependiendo de la técnica usada para obtener la solución, de: 0.2 a 300 µg L⁻¹³. Sposito y Page (1984)⁵⁴ han predicho, basados en modelos, las siguientes especies de Cd en suelos óxicos: Cd²⁺, CdSO₄, y [CdCl]⁺, en solución ácida, y Cd, [CdCl]⁺, CdSO₄, y [CdHCO₃]⁺ en solución alcalina. Entre el 55 y el 90 % de Cd en la solución de suelo está presente como el ion metálico libre Cd²⁺, aunque la especiación de un metal depende de la concentración de ligantes y complejos metálicos. De acuerdo con Welch y Norvell (1999)⁵⁵, además de las especies inorgánicas, el Cd en solución también se presenta en complejos con varios ácidos orgánicos como aminoácidos, ácidos húmicos y fúlvicos. Un análisis simple de correlación indica que solamente el pH correlaciona significativamente con la adsorción del metal. El pH es una variable de control de la complejación del metal por la materia orgánica.

Las reacciones redox y la formación de complejos son importantes para la movilidad del Cd en suelos⁵⁶. Lamy *et al.* (1993)⁵⁷ explicaron que la dependencia del pH (4.4 – 7.0) de la capacidad de sorción involucra competencia entre el catión metálico y los protones para la sorción reactiva en los constituyentes del suelo. Incrementar el pH resulta en el incremento de la sorción de Cd en el material húmico. La precipitación de Cd puede ocurrir a altas actividades de Cd²⁺ bajo condiciones alcalinas (pH > 7.0). En condiciones anaerobias, el Cd en la solución de suelo está gobernado por la precipitación de sulfuro, como se puede apreciar de los valores presentados en la Tabla 2.3.2.2.1, en donde se tiene que una actividad muy baja de S²⁻ hace que el CdS precipite pese a que el Cd₃(PO₄)₂ tiene un valor de pK_s más alto.

Tabla 2.3.2.2.1. Productos de solubilidad de compuestos de Cd y la mínima actividad del anión calculada que controla la concentración de Cd³

Compuesto	pK _s	Actividad del anión a 10 ⁻⁷ mol L ⁻¹ de concentración de Cd
CdS	27.9	S ²⁻ = 10 ^{-20.9}
CdCO ₃	12.1	(CO ₃) ²⁻ = 10 ^{-5.1}
Cd(OH) ₂	13.7	(OH) ⁻ = 10 ^{-3.35}
Cd ₃ (PO ₄) ₂	32.6	(PO ₄) ³⁻ = 10 ^{-5.8}

La absorción de Cd de una dosis oral en humanos se ha calculado ser de 4.6 – 7 %. La proporción que es absorbida depende de la composición de la dieta y de la dosis. Sin embargo, para humanos con bajas reservas de Fe, han sido reportadas absorciones de hasta 4 veces más alta comparadas con personas con niveles normales de Fe. Las condiciones que influyen en el incremento de la absorción de Cd vía tracto gastrointestinal son la baja ingesta de proteína, vitamina D, Ca, Fe, Zn, y Cu. Sin embargo, una alta ingesta de fibra puede resultar en una baja absorción intestinal de Cd⁴³.

El contenido de Cd en tejidos de mamíferos varía entre < 0.06 y 1300 mg kg⁻¹, siendo el más alto en riñones y el más bajo en músculos⁴⁸. Su concentración en tejido blando de humanos está en el rango de 0.03 a 14 mg kg⁻¹, en músculos y riñones, respectivamente. El contenido promedio en tejido de un hombre tomado como referencia es 0.17 mg kg⁻¹⁴⁹. Sus concentraciones medias en fluidos humanos han sido reportadas en µg L⁻¹ como: 0.6 en sangre, 0.2 en suero, y 0.9 en orina⁵⁰.

El Cd es uno de los metales más tóxicos para humanos, principalmente debido a la capacidad para combinarse con los grupos sulfhidrilo y, por lo tanto, alterando la función de algunos grupos (SH)⁻ de enzimas que conducen a cambios en las proteínas. Los principales efectos del exceso de Cd en humanos son: daño renal, hipertensión, enfisema, cambios carcinogénicos (principalmente de riñón y próstata), deformación esquelética debido a alteraciones en el metabolismo de Ca (especialmente en mujeres ancianas, itai-itai), y bajas funciones de reproducción³.

El ingreso del Cd a los humanos se da principalmente por inhalación e ingestión de alimentos y bebidas. Otro mecanismo es de mano a boca que generalmente ocurre en los lugares de trabajo. La ingesta provisional tolerable semanalmente (PTWI, siglas en inglés) es de 7 µg kg⁻¹ de masa corporal (MC)⁵⁸. Sin embargo, la mayoría de datos de la ingesta de Cd están dados en µg día⁻¹ persona⁻¹. Estos valores son diferentes para cada país y están, de modo general, en el intervalo de 8 a 113 µg⁷. Del 10 al 40 % del Cd inhalado puede ser retenido en el cuerpo dependiendo del tamaño de la partícula de Cd mientras que, por ingesta, se retiene del 4 al 10 %⁵⁹. El comité de expertos de la *FAO/WHO* propusieron la ingesta tolerable de Cd en alrededor de 70 µg día⁻¹⁶⁰.

La toxicidad aguda por Cd es rara. Con la deficiencia de Zn, más Cd es almacenado en el cuerpo humano. Como tiene un tiempo largo de retención en el cuerpo, la concentración de Cd en órganos específicos se incrementa con el tiempo. Estos órganos por lo general son el hígado o más específicamente la corteza renal. Mujeres ancianas que viven en áreas urbanas industrializadas frecuentemente sufren de disminución de la función renal ⁵⁹.

2.3.2.3. Cobre (Cu)

El Cu se encuentra en la corteza terrestre en concentraciones entre 25 – 75 mg kg⁻¹. Tiene una fuerte afinidad por el sulfuro (S²⁻), por lo que sus principales minerales son: la calcopirita [CuFeS₂], bornita [Cu₅FeS₄], calcocita [Cu₂S], y la covelita [CuS]. El segundo grupo contiene minerales oxidados de Cu, que se forman principalmente durante el intemperismo de los sulfuros de Cu expuestos a erosión. El Cu se incorpora como minerales de óxido o carbonato de los que los más comunes son la cuprita [Cu₂O], ternarita [CuO], malaquita [Cu₂CO₃(OH)₂], y la azurita [Cu₂(CO₃)₂(OH)₂]. El Cu está asociado con frecuencia con la esfalerita [ZnS], pirita [FeS] y galena [PbS]. Sus depósitos se encuentran comúnmente en rocas ígneas ácidas y en varios depósitos de sedimentos^{3, 53}.

Los contenidos de Cu están estrechamente asociados con la textura del suelo y normalmente son los más bajos en suelos arenosos ligeros y los más altos en suelos francos. Además de la textura del suelo, algunos otros parámetros del suelo, en particular el pH y la materia orgánica, también controlan su distribución y comportamiento. Los valores generales para el promedio del contenido total de Cu en suelos de diferentes tipos de todo el mundo son reportados en el intervalo de 20 a 30 mg kg⁻¹ ⁵³. Sin embargo, valores abajo de 10 mg kg⁻¹ son muy frecuentemente citados y así, el intervalo global para la concentración media de Cu es de 8 mg kg⁻¹ en suelos arenosos a 80 mg kg⁻¹ en suelos francos pesados⁷. Otras fuentes^{61, 62} dan el intervalo global para Cu en suelos como 2 – 250 mg kg⁻¹. Generalmente, el Cu se acumula en los primeros centímetros del suelo, pero tiene la tendencia a ser adsorbido por compuestos orgánicos, carbonatos, arcillas minerales, y oxohidróxidos de Fe y Mn, y también en capas de suelo más profundas.

El cobre se encuentra en la mayoría de los suelos como el ion [Cu(H₂O)₆]²⁺ adsorbido en minerales arcillosos o co-precipitado en otros minerales y componentes orgánicos del suelo. Dependiendo del pH, el Cu puede presentarse en varias formas: Cu²⁺, Cu⁺, [CuCl₂]⁻, CuSO₄, Cu(OH)₂, CuCO₃ y CuCl ⁵³. El comportamiento del Cu en los suelos depende altamente en sus compuestos y especies. Las concentraciones de Cu en soluciones de suelo están en el intervalo de 0.5 a 135 µg L⁻¹, dependiendo de la técnica usada para la extracción de la solución y el tipo de suelo. Ponizovsky *et al.* (2006)⁶³ calcularon que la mayoría del Cu agregado es adsorbido en el suelo y solamente alrededor del 1 % de la cantidad total permaneció en solución.

De acuerdo con Jørgensen (2000)⁴⁸ el contenido promedio de Cu en tejido mamífero está en el intervalo de 1.7 a 196 mg kg⁻¹, con el valor más bajo en la piel y el más alto en el hígado. El intervalo de concentraciones en humanos dado por Li (2000)⁴⁹ está entre 0.7 y 7.8 mg

kg⁻¹, con el valor más bajo para los músculos y el más alto para hígado; el nivel medio de Cu en los tejidos de un hombre tomado como referencia se estima en 1 mg kg⁻¹. La concentración de Cu en sangre varía den el rango de 0.8 – 1.6 mg L⁻¹ y normalmente es más alto en mujeres que en hombres³.

El Cu es un elemento esencial, componente de algunas proteínas y metaloenzimas. Es prerrequisito en reacciones redox y síntesis de hemoglobina. El hígado en un depósito de Cu que puede ser movilizado en el caso de un balance negativo⁶⁴.

La deficiencia de Cu en humanos puede derivar en algunos males como: crecimiento lento, anemia y problemas de fertilidad, pérdida de masa corporal y cabello, desórdenes del sistema nervioso central, problemas cardiovasculares, osteoporosis y algunas disfunciones de tipo metabólico⁵². Un exceso de Cu tiene un efecto adverso en algunos procesos fisiológicos como: deterioro de las propiedades de la membrana; deterioro del ADN y las funciones de las enzimas, especialmente aquellas que contienen grupos sulfhidrilo (SH)³.

El Cu es absorbido principalmente a través del tracto gastrointestinal⁶⁵. El requerimiento de Cu para adultos se estableció como 1.5 – 4 mg día⁻¹ y es prácticamente cubierto por la dieta normal de la población en la mayoría de países. La *FAO/WHO* han adoptado el requerimiento dietético provisional de Cu de 0.05 mg por kg de MC y el consumo toxicológico como 0.5 mg por kg de MC⁶⁵.

2.3.2.4. Plomo (Pb)

De los contaminantes ambientales conocidos, el Pb tiene pocos competidores como un elemento persistente, que causa efectos perjudiciales a los humanos, animales y ecosistemas. Sin embargo, es también un metal muy útil. Se encuentra en la naturaleza principalmente con Pb²⁺ y sus compuestos son mayormente insolubles en agua. Hay todavía grandes cantidades de Pb, principalmente como PbSO₄ y PbCO₃ liberados en los compartimientos ambientales. Este metal es removilizado en los ecosistemas provocando efectos tóxicos a las especies terrestres y acuáticas³.

El mineral más importante de Pb es la galena, PbS. Otros minerales comunes son: anglesita (PbSO₄), cerrusita (PbCO₃), minio (Pb₃O₄), piromorfita [Pb₅(PO₄)₃Cl], y mimetita [Pb₅(AsO₄)₃Cl]. Las minas de Pb están ampliamente distribuidas en el planeta. Normalmente, el Pb se obtiene de depósitos de galena. El producto contiene diferentes metales como impurezas: Cu, Ag, Au, Zn, Sn, As, y Sb que deben ser removidos para obtener Pb con 99.99 % de pureza³.

El contenido de Pb natural en suelos se deriva de la roca parental. Su abundancia en sedimentos es una función del contenido de arcillas y así los sedimentos arcillosos contienen más Pb que las arenas, areniscas y calizas. El estatus de Pb del suelo ha sido intensamente estudiado. Sin embargo, la mayoría de datos presentados no son comparables debido a los muy diferentes métodos usados para la preparación de las muestras de suelo y para la extracción del metal. Sólo los valores obtenidos de la fusión HF/HClO₄ y la

extracción con agua regia pueden ser considerados como comparables para la determinación del contenido total de Pb en la muestra. El valor medio general de Pb para diferentes suelos ha sido calculado en un promedio de 25 mg kg^{-1} ⁷. Angelone y Bini (1992)⁶⁶ citan que la concentración de Pb en un suelo no contaminado es menor a 100 mg kg^{-1} .

El contenido de Pb en suelos muestra una correlación positiva con la fracción granulométrica. Sus cantidades más bajas son hasta 40 mg kg^{-1} en suelos arenosos ligeros, y las más altas hasta 90 mg kg^{-1} en suelos francos pesados. Algunos contenidos elevados han sido también reportados para suelos calcáreos y orgánicos.

El Pb no está uniformemente distribuido en los horizontes del suelo y revela una gran asociación con los hidróxidos, especialmente de Fe y Mn. Sus concentraciones en nódulos de Fe-Mn y concreciones pueden ser muy altas, hasta $20,000 \text{ mg kg}^{-1}$ ³. Éste también puede ser concentrado en partículas de carbonatos o fosfatos. El Pb generalmente se acumula en la superficie del suelo, principalmente debido a la sorción por la materia orgánica del suelo. La movilización del Pb es generalmente baja, pero algunos parámetros del suelo, como el incremento en la acidez, formación de complejos orgánicos con Pb pueden incrementar su solubilidad, la concentración de Pb en la soluciones de suelo en relativamente baja, y depende del método usado para la extracción de la solución de suelo, variando de < 1 a $60 \mu\text{g L}^{-1}$. Está presente en el suelo como especies catiónicas: Pb^{2+} , $[\text{PbCl}]^+$, $[\text{PbOH}]^+$, y como especies iónicas: $[\text{PbCl}_3]^-$, $[\text{Pb}(\text{CO}_3)_2]^{2-}$ ³. El Pb desorbido en la solución de suelo puede fácilmente moverse de horizontes altos a los bajos provocando la contaminación de las aguas subterráneas. Algunos autores han señalado que la fijación de Pb por la materia orgánica del suelo es más importante que la fijación a los oxohidróxidos.

La contaminación del suelo debida al Pb de las actividades mineras e industriales no es un problema nuevo, las altas temperaturas de los procesos de fundición emiten: PbS , PbCO_3 , PbCl_2 , $(\text{PbO} \cdot \text{PbSO}_4)$, Pb^0 , y PbO . En áreas mineras, el Pb puede ser dispersado debido a la erosión e intemperismo químico de los jales. La severidad de estos procesos depende de las características químicas y los minerales presentes en el jal⁶⁷.

El Pb es un elemento abundante en el tejido de mamíferos y el intervalo es de < 0.2 a 4.8 mg kg^{-1} , siendo más bajo en los músculos y más alto en riñones e hígado⁴⁸. Su contenido más alto, hasta 35 mg kg^{-1} , se reportó de cabello y sirve como un bioindicador de la exposición de humanos, especialmente niños. La concentración de Pb en un hombre de referencia es de 1.7 mg kg^{-1} , y su distribución está entre 0.18 y 11.0 mg kg^{-1} en tejidos blandos y esqueleto, respectivamente⁴⁹. Los fluidos humanos contienen Pb (en $\mu\text{g L}^{-1}$) de: 150 en sangre, 17 en orina, y 0.3 en suero⁵⁰.

La ingestión de suelo y polvo de una casa es la mayor ruta de exposición de Pb para niños, debido a las actividades mano-boca. Las cantidades de Pb que ingiere dependen de algunos factores, como del comportamiento y edad del niño, y de la biodisponibilidad de los compuestos de Pb. Un niño de 1 – 6 años de edad puede ingerir 0.2 g de Pb contenido en el

polvo por día, y ocasionalmente 5.0 g día^{-1} . Los efectos tóxicos del Pb han sido conocidos por siglos. Incluso los romanos ya estaban familiarizados con algunos efectos tóxicos del Pb.

La media mundial de ingesta de Pb por dieta en adultos ha sido estimada en $440 \mu\text{g día}^{-1}$. Ha sido reportado que un hombre adulto puede absorber del 5 al 15 % del Pb ingerido, de los que menos del 5 % es retenido. Los niños absorben y retienen mucho más Pb debido a diferencias fisiológicas y metabólicas. Los niños pequeños pueden absorber hasta el 50 % del Pb de la dieta mientras que un adulto toma solo alrededor de 10 % ⁶⁸. La absorción de Pb por los humanos es una función de la forma del Pb y tipo de dieta. Cuando una dieta es baja en Fe, Ca y proteínas, la absorción de Pb es más alta.

El Pb absorbido se distribuye en la sangre, tejido blando, y particularmente en los huesos, incluyendo los dientes. El cuerpo humano no puede diferenciar entre Pb y Ca; por lo tanto, la mayoría del Pb es almacenado en los huesos y dientes, donde hasta de 90 % del Pb absorbido se puede acumular. El exceso de Pb puede ocasionar los siguientes efectos en la salud: daño del sistema nervioso, inhibición de la formación de hemoglobina, anemias (inhibición de la síntesis de hemoglobina), problemas en el desarrollo mental de los niños, cacinogenicidad y genotoxicidad, y desórdenes reproductivos³.

2.3.2.5. Zinc (Zn)

El Zn está uniformemente distribuido en rocas magmáticas, mientras que en rocas sedimentarias es probablemente encontrado en sedimentos arcillosos. Es muy móvil en los procesos de intemperismo y sus compuestos fácilmente solubles son rápidamente precipitados por reacción con los carbonatos, o es sorbido por minerales y compuestos orgánicos, especialmente en presencia de aniones sulfuro (S^{2-}). Algunos de los compuestos más comunes son el cloruro (ZnCl_2), óxido (ZnO), sulfato (ZnSO_4), y sulfuro (ZnS). Esto significa que el metal tiene el potencial de formar una variedad de compuestos con grupos orgánicos e inorgánicos. La Tabla 2.3.2.5.1 presenta la relación porcentual de Zn puro en varios minerales.

Tabla 2.3.2.5.1. Contenido de Zn en minerales de Zn comunes³

Mineral	Fórmula Química	Zn (%)
Esfalerita	ZnS	67.0
Smithsonita	ZnCO_3	52.0
Hemimorfita	$\text{Zn}_4\text{Si}_2\text{O}_7(\text{OH})_2\cdot\text{H}_2\text{O}$	54.2
Hidrocincita (Flor de Zn)	$\text{Zn}_5(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_6$	56.0
Zincita	ZnO	80.3
Willemita	Zn_2SiO_4	58.5

El Zn está distribuido de manera desigual en los suelos y su intervalo de concentración está entre 10 y 300 mg kg^{-1} , con un promedio de 50 mg kg^{-1} . La media de Zn a nivel mundial está calculada en 64 mg kg^{-1} . Los contenidos más altos de fondo de Zn se observaron en

suelos calcáreos y suelos orgánicos. Aunque el Zn es muy móvil en la mayoría de suelos, las fracciones de arcilla y materia orgánica son capaces de retener al Zn bastante fuerte, especialmente a pH neutro y alcalino⁷. Ha sido calculado que la fracción de arcillas controla hasta aproximadamente el 60 % del Zn distribuido en el suelo. Aparentemente hay dos mecanismos de sorción de Zn: uno en medio ácido relacionado con los sitios de intercambio catiónico, y otro en medio alcalino que es considerado ser la quimi-sorción y es altamente influenciado por los ligantes orgánicos. También los hidróxidos de Al, Fe y Mn parecen ser de importancia en la unión de Zn en algunos suelos³.

El comportamiento del Zn es controlado por algunos parámetros del suelo y varía grandemente en diferentes suelos. Los silicatos, carbonatos, fosfatos, óxidos y materia orgánica pueden contribuir a la retención del metal en el suelo. En la solución de suelo, el Zn aparece en forma libre y complejos iónicos; como cationes: Zn^{2+} , $[ZnCl]^+$, $[ZnOH]^+$, y $[ZnHCO_3]^+$, y como aniones: $[ZnO_2]^{2-}$, $[Zn(OH)_3]^-$, y $[ZnCl_3]^-$ ³. La concentración de Zn en la solución de un suelo natural fue de 35 (13 – 72) $\mu g L^{-1}$. Sin embargo, dependiendo de la técnica usada, las concentraciones pueden variar en el intervalo de 21 a 570 $\mu g L^{-1}$ ⁷.

Cerca de sitios contaminados, los niveles de Zn junto con otros metales pueden ser bastante altos, de 444 a 1112 $mg kg^{-1}$. Altos niveles de Zn en suelos alrededor de áreas mineras han sido reportados por Angelone y Bini (1992)⁶⁶ para diferentes países, con concentraciones que varían entre 1020 y 10547 $mg kg^{-1}$.

El contenido de Zn en tejido mamífero varía entre 13 y 210 $mg kg^{-1}$, siendo los más altos en los riñones e hígado y los más bajos en la piel⁴⁸. Su concentración en los tejidos blandos de humanos esta en el intervalo de 10 a 57 $mg kg^{-1}$, en pulmones y hígado, respectivamente. El promedio de contenido en un hombre de referencia es de 33 $mg kg^{-1}$ ⁴⁹. Su concentración media en los fluidos humanos ha sido reportada en $mg L^{-1}$ de la siguiente manera: 6.3 en sangre, 0.9 en suero, y 0.5 en orina⁵⁰.

El Zn cumple con algunas funciones fundamentales en el proceso metabólico, principalmente de proteína, carbohidratos y ADN. Es esencial para el crecimiento, desarrollo y reproducción. Los valores de referencia dietético para la ingesta de Zn (en $mg día^{-1}$) establecido son: 5.5 – 7.5 para niños (1 – 10 años), 12 – 13 para adolescentes (11 – 18 años), 9.5 para un hombre adulto, y 6.5 para una mujer adulta⁶⁹.

El Zn es relativamente poco tóxico y por tanto problemas por su deficiencia ocurren con más frecuencia. La ingestión o inhalación de grandes dosis de Zn, especialmente en forma de compuestos inorgánicos, puede ser perjudicial para los individuos. Puede dañar el aparato digestivo, provocando diarrea y fiebre³.

2.4. Actividades minero-metalúrgicas en México

La minería y las actividades de transformación y producción relacionadas con ella se han constituido durante años en un sector muy importante de la economía mexicana. Esta actividad se realiza desde épocas prehispánicas y a la fecha sigue aportando grandes

beneficios a la economía del país. Según el Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, ahora solamente de Estadística y Geografía, del 2003 al 2008 aportó entre el 5.0 y 5.9 % del producto interno bruto, incrementándose al 8.6 % en el informe del INEGI para el período del 2006 al 2010. Sin embargo, en el transcurso del tiempo se han generado grandes volúmenes de residuos de granulometría fina a los que les denomina jales (del náhuatl “xalli” que significa material fino o arena fina), y que representan un riesgo potencial para el ambiente⁷⁰.

2.4.1. Residuos de actividad la minera

La materia prima obtenida de los diferentes tipos de yacimientos, son sometidos a procesos físicos y químicos con el objetivo de extraer los metales de interés económico. El avance de la tecnología en la industria minera mundial propició la introducción en México de procesos metalúrgicos como la flotación y la cianuración a inicios del siglo XX, lo que ha permitido explotar mayores volúmenes de mineral con valor comercial, a la vez que propició la generación de mayor cantidad de residuos, entre los que destacan los denominados “jales”⁷¹.

Los jales que son generados en los procesos de concentración de minerales de plomo, zinc y cobre, contienen, por lo general, sulfuros metálicos como: pirita (FeS_2), pirrolita (Fe_{1-x}S), galena (PbS), esfalerita (ZnS), calcopirita (CuFeS_2) y arsenopirita (FeAsS), que son la fuente de elementos potencialmente tóxicos (EPT) como arsénico (As), cadmio (Cd), cobre (Cu), plomo (Pb), zinc (Zn), etc⁷².

No existe una estimación confiable de la cantidad de jales distribuidos en toda la República Mexicana. Se estima que en el país se pueden encontrar poco más de 80 almacenamientos de jales en operación. Sin embargo no existe un inventario de la cantidad y situación de las presas de jales inactivas o abandonadas⁷¹.

Se han clasificado a los contaminantes del suelo en dos grupos, inorgánicos y orgánicos, debido a que sus propiedades químicas determinan el comportamiento de ellos en dicho medio. Las Tablas 2.3.1 y 2.3.2 muestran las afectaciones de los contaminantes que son de interés en este trabajo. El presente trabajo se enfocará en los EPT derivados de las actividades minero-metalúrgicas.

Un problema importante asociado a los jales, es la generación de drenaje ácido y su dispersión a través de los escurrimientos superficiales (dispersión hídrica). El drenaje ácido se genera por la oxidación de los sulfuros metálicos, formando soluciones que se caracterizan por sus bajos valores de pH y alto contenido de EPT disueltos⁷³⁻⁷⁵, cuyo transporte se convierte en un problema ambiental al contaminar suelos, sedimentos y aguas superficiales y subterráneas⁷⁶⁻⁷⁸.

Para que ocurra la oxidación en los jales, es necesario que contengan sulfuros metálicos reactivos y que existan las condiciones climáticas apropiadas (aire, agua o atmósfera húmeda). Este proceso de oxidación de los sulfuros metálicos es muy limitado durante la

operación de la mina y se desarrolla lentamente a lo largo del tiempo luego de que cesa la acumulación de material en los depósitos y la porosidad en los mismos permiten la difusión de oxígeno del aire. Antes de la oxidación de los jales, éstos son de color gris al no presentar alteración. Ocurrida la oxidación de los sulfuros, los jales toman una coloración café, amarilla o roja⁷¹, debido al incremento de óxidos de Fe(III) producto de los procesos redox.

Históricamente, los jales generados fueron depositados en los alrededores de las minas en sitios topográficamente bajos sin tomar en cuenta alguna medida de protección ambiental, convirtiéndose en focos potenciales de contaminación para la región donde están ubicados⁷¹.

2.5. Legislación ambiental

En muchos países se han creado regulaciones para los suelos contaminados; estas regulaciones requieren que las autoridades identifique los sitios que caen dentro de la definición de suelo contaminado, es decir, un sitio en el que el suelo se ha degradado al acumularse en él sustancias a niveles tales que repercuten negativamente en el comportamiento de ese suelo, volviéndose tóxicas para los organismos del suelo; y proporciona opciones adecuadas de remediación de acuerdo con el enfoque de “uso adecuado”². Las responsabilidades legales para las autoridades locales incluyen las siguientes:

- Inspeccionar las áreas para identificar suelos contaminados.
- Preparar y entregar las notificaciones de suelos contaminados.
- Establecer si los sitios deberían ser asignados como sitios especiales y así llegan a ser responsabilidad de la Agencia del Ambiente.
- Entregar noticias de remediación donde sea necesario.
- Realizar evaluaciones de la mejor opción de remediación practicable y probar su viabilidad.
- Consultar a otras partes, incluyendo a la Agencia del Ambiente.
- Recopilar y mantener registros de los suelos contaminados.

La inspección de las áreas potenciales de suelos contaminados por las autoridades es un primer paso importante en este proceso. Así como inspeccionar el suelo, es necesario identificar si tienen un contaminante significativo enlazado entre una fuente (e.g., el contaminante), una ruta (e.g., ingestión) y un receptor (e.g. humanos).

En el Reino Unido, por ejemplo, valores de referencia para suelos han sido y están siendo desarrollados para un intervalo de metales/metaloideos y contaminantes orgánicos para evaluar el riesgo para los humanos. En la selección de los contaminantes potenciales a ser explorados, dos criterios han sido usados: (i) los contaminantes serían comúnmente encontrados en muchos sitios y en concentraciones que probablemente provoquen daño; y

(ii) los contaminantes que muestren un riesgo potencial para los humanos y/o tienen el potencial para provocar interrogantes asociadas con aguas naturales, los ecosistemas o la integridad de construcciones². La Tabla 2.5.1 proporciona algunos valores que son usados como referencia de la concentración de elementos traza en los suelos agrícolas y que nos pueden servir de guía para la determinación de un suelo contaminado.

Tabla 2.5.1. Concentraciones máximas permitidas (CPM) en mg kg^{-1} para elementos traza en suelos agrícolas

Metal	CMP ^a
As	15 – 20
Cd	1 – 5
Cr_{total}	50 – 200
Cu	60 – 150
Hg	0.5 – 5
Ni	20 – 60
Pb	20 - 300
Zn	100 - 300

^aValores reportados más comúnmente en la literatura, recopilada de Kabata-Pendias y Sadurski (2004)⁷⁹ y Chen (1999)⁸⁰

3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

3.1. Materiales

3.1.1. Muestreo

Para el presente estudio se seleccionaron dos sitios de estudio, uno de ellos correspondiente a una zona de disposición de jales mineros en Taxco (Estado de Guerrero) (Fig. 3.1.1.1); en donde se tomaron cuatro muestras de jales, una de ellas correspondió a un jal oxidado, éste último servirá para observar diferencias con el envejecimiento del jal y de seis muestras de suelo de los alrededores de los jales. Los suelos se recolectaron a unos diez metros del borde del jal y una distancia de aproximadamente de cien metros de espacio entre cada una de ellas.

Las muestras tomadas en el perímetro del depósito de jales ayudarán a observar si existe contaminación por parte de jal a los suelos aledaños y la dirección en que ésta se produce debido a la acción del viento. No existen datos previos de estudios realizados en esta localidad.

En la Tabla 3.1.1.1 se dan los datos de la ubicación de los puntos de recolección de cada una de las muestras.

Tabla 3.1.1.1. Códigos, coordenadas *UTM* y tipo de muestras que se recolectaron en Taxco, Guerrero

Código	<i>UTM</i> (14)		Huso	Tipo de muestra
	X	Y		
TJF-01	437061	2048447	14	JG
TJF-02	437099	2048586	14	JG
TJF-03	437041	2048740	14	JG
TSF-04	437032	2048433	14	S
TSF-05	437095	2048418	14	S
TSF-06	437167	2048410	14	S
TSF-07	437193	2048337	14	S
TSF-08	437278	2048320	14	S
TJF-09	437299	2048340	14	JO
TSF-10	437353	2048255	14	S

JG jal gris; JO jal oxidado; S suelo contaminado

La Figura 3.1.1.1 indica los puntos de muestreo sobre el mapa del sitio donde se depositan los residuos de las extracciones de la mina.



Figura 3.1.1.1. Mapa de ubicación de las muestras recolectadas en Taxco, Guerrero.

La segunda localidad corresponde a San Luis Potosí en la que se seleccionaron nueve muestras de los alrededores de la planta metalúrgica inactiva (de cobre y de arsénico) del sitio.

El criterio para la selección de los datos partió del análisis de bioaccesibilidad que ya se habían realizado en el sector⁸¹. Se quiso obtener un amplio intervalo de concentraciones totales, siendo el Cd el principal elemento en el criterio de selección para asegurar el tener suficiente cantidad de este elemento para no tener problemas de detección analítica; el segundo criterio para la selección de las muestras en esta localidad fue que éstas tuvieran bioaccesibilidades diferentes para los elementos que en este estudio previo se analizaron (As, Cd y Pb).

La Tabla 3.1.1.2 muestra la codificación y tipo de muestras recolectadas en San Luis Potosí. La Figura 3.1.1.2 indica las ubicaciones geográficas de las muestras que se tomaron en San Luis. Se encontró que la muestra SLP-09 corresponde únicamente a un residuo de la planta, mientras que el resto corresponden a suelos contaminados con los residuos de la planta metalúrgica.

Tabla 3.1.1.2. Códigos y coordenadas *UTM* de las muestras recolectadas en San Luis Potosí, San Luis Potosí

Código	<i>UTM</i> (14)		Huso	Tipo de muestra
	X	Y		
SLP-01	290700	2453698	14	S
SLP-02	290751	2452152	14	S
SLP-03	291052	2451852	14	S
SLP-04	291351	2452250	14	S
SLP-05	290652	2451450	14	S
SLP-06	290548	2451952	14	S
SLP-07	290749	2451749	14	S
SLP-08	291352	2451851	14	S
SLP-09	290450	2451650	14	R

S suelo contaminado; R residuo

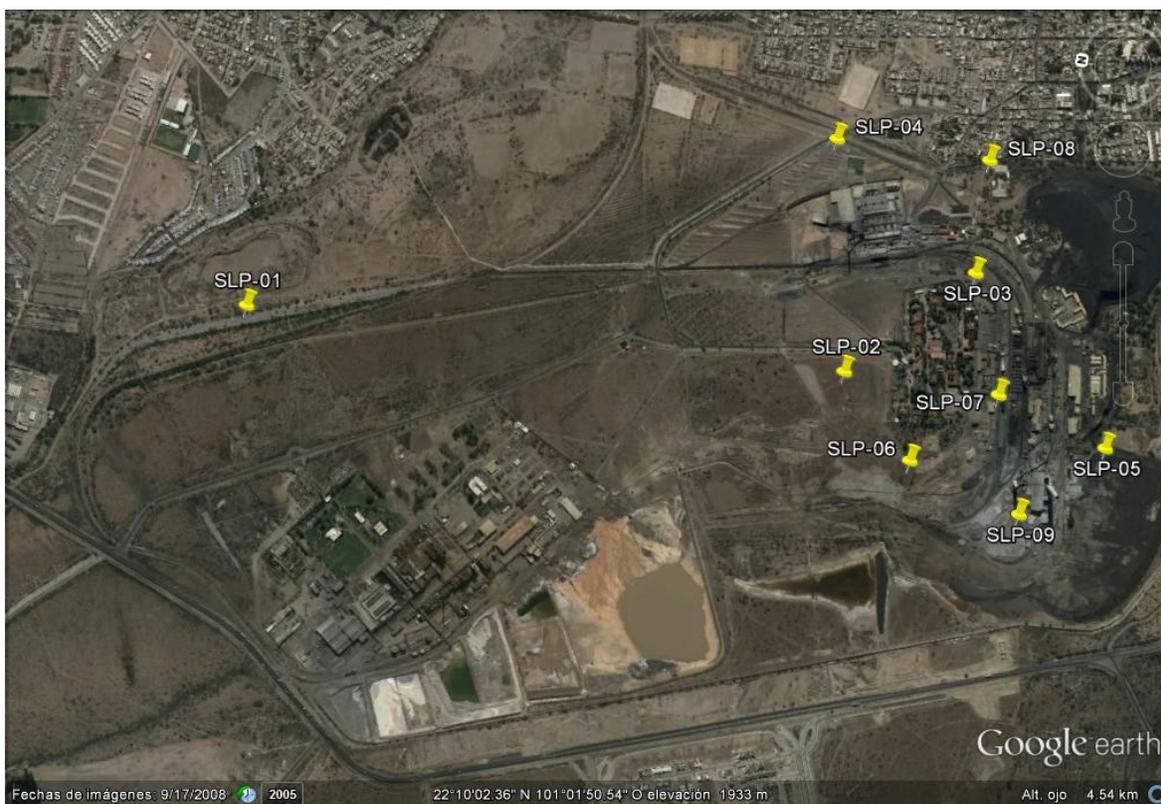


Figura 3.1.1.2. Mapa que ubica las muestras que se recolectaron en San Luis Potosí, San Luis Potosí.

3.2. Métodos

3.2.1. Tratamiento de las muestras

Todas las muestras recolectadas se secaron al aire a temperatura ambiente, se molieron y tamizaron por malla 10 (M10), para obtener tamaños de partícula menores a 2 mm para los análisis físico-químicos.

Parte de cada una de las muestras se molieron usando un molino de bolas SPEX CertiPrep modelo MIXER/MILL 8000, con cápsula de ágata (M10M) hasta obtener partículas muy finas para, posteriormente, determinar los contenidos totales de elementos.

Las muestras tamizadas en malla 10 se volvieron a tamizar por malla 60 (M60) y así obtener partículas de un tamaño menor que 250 μm para determinar la cantidad de metales pesados por el método de Ruby *et al.* (1993)¹⁵, así como por el de las extracciones simples. Se registraron las masas de cada una de las muestras que fueron tamizadas y las que quedaron retenidas en la malla ($D > 60$).

Una parte de las muestras tamizadas por malla 60 (M60) se volvieron a moler para obtener partículas muy finas (M60M) y también se molieron las fracciones de suelo que quedaron retenidas en el tamiz ($D > 60\text{M}$).

En cada uno de los dos tipos de fracciones de suelo se determinó el contenido total de los elementos de estudio en su correspondiente tamaño de partícula.

Otra fracción de las muestras M10 se retamizaron por malla 400 y de este modo se obtuvieron muestras de tamaño de partícula menor que 38 μm (M400) que serán usadas en las observaciones y análisis por microscopía electrónica y difracción de rayos X.

3.2.2. Análisis físicos y químicos de suelos y jales

El pH y la conductividad eléctrica de los suelos fueron medidos en extractos con una relación 1:5 de muestra:agua usando un potenciómetro HANNA HI 251 y un conductímetro CORNING 441, respectivamente. La agitación para la obtención de los extractos se realizó usando un agitador orbital marca LUMISTELL modelo AOP-70.

El contenido de arcillas se determinó con el método para evaluar la composición de suelos por tamaños de partícula usado por el Departamento de Edafología del Instituto de Geología de la UNAM, usando un densímetro ROBSAN con escala de Bouyoucos (g L^{-1}) a 20°C según la norma ASTM 151-H.

La capacidad de intercambio catiónico (CIC) se determinó por el método del cloruro de bario (BaCl) como se describe en Juárez *et al.* (2009)⁸², siendo el valor mínimo que pudo determinarse de 1.5 $\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$.

El carbono inorgánico total (CIT) se cuantificó por gravimetría, al hacer reaccionar 3 g de muestra seca con una solución de HCl sobre una cápsula previamente tarada, según lo describe el método citado por Gavlak *et al.* (2003)⁸³.

El carbono orgánico total (COT) se determinó también por gravimetría posterior a la determinación de CIT, al secar la muestra en una horno JM Ortiz y posterior calcinación de la misma usando una mufla Thermolyne 48000, según lo describe Ball *et al.* (1964)⁸⁴.

Todos los análisis para los parámetros físico-químicos se realizaron por duplicado y usando una balanza analítica SARTORIUS R200D que tiene una precisión de 0.0001 g.

Los materiales y equipos que se han descrito en esta sección se encuentran en el Laboratorio de Análisis Físicos y Químicos del Ambiente (LAFQA) del Instituto de Geografía en la UNAM.

3.2.3. Bioaccesibilidad

Los ensayos para determinar la bioaccesibilidad en FG y FI, se realizaron usando el equipo y el método *PBET* establecido en el Laboratorio de Geoquímica Ambiental del Instituto de Geología en la UNAM. La Figura 3.2.3.1 muestra el diseño del equipo para evaluar la bioaccesibilidad de EPT que se usó en este estudio.



Figura 3.2.3.1. Equipo para evaluar la bioaccesibilidad según el método *PBET* en el Laboratorio de Geoquímica Ambiental, del Instituto de Geología (UNAM). En ambas imágenes es posible apreciar las mangueras para el flujo de argón que es usado como sistema de agitación

Un total de 100 mL de agua desionizada tipo I con pepsina (125 mg) y ácidos orgánicos (acético [42 μ L], cítrico [50 mg], láctico [42 μ L] y málico [50 mg]) fue ajustada a pH = 2 con HCl 37%. En un embudo de reacción se colocó 1 g de muestra M60, los frascos se conectaron al sistema de agitación por circulación de argón sumergidos en un baño de agua a 37°C, se agregó la solución de ácidos y se agregaron 3 gotas de decanol como antiespumante. Se realizaron controles del pH y ajuste con HCl concentrado para mantenerlo en un valor de pH = 2. A los 60 min se extrajo una alícuota de 6.6 mL, se filtró a través de una membrana de 0.05 μ m y en el líquido filtrado se almacenó a temperatura entre 3 y 4°C hasta la determinación de la concentración de metales pesados

correspondiente a la fase estomacal o gástrica. A la solución del embudo de reacción se le incrementó el pH hasta 7 ± 0.2 con NaHCO_3 . Se agregaron 6.6 mL de solución intestinal que contiene pancreatina (49.5 mg) y extracto de bilis (171.6 mg) en los 6.6 mL. Se agitó el sistema usando flujo de argón por 5 min y se dejó en reposo por 55 min, repitiendo este proceso hasta ajustar un tiempo de 3 h. Luego de transcurridas las tres horas se extrajeron 10 mL del fluido, que se filtraron a través de una membrana de $0.05 \mu\text{m}$ y el líquido filtrado se almacenó a temperatura entre 3 y 4°C hasta la determinación de la concentración de metales pesados que correspondieron a la fase intestinal. Las muestras se analizaron por duplicado de cada una de las fases¹⁵.

3.2.4. Extracciones simples

Dos métodos de extracción individual se usaron para determinar los metales lábiles. Todas estas extracciones se realizaron por triplicado. Las concentraciones en las muestras sólidas [$\text{C}(\text{mg kg}^{-1})$] a partir de las concentraciones de los extractos [$\text{C}(\text{mg L}^{-1})$] realizados se calcularon usando la siguiente expresión general:

$$C(\text{mg kg}^{-1}) = \frac{c(\text{mg L}^{-1}) \times V(\text{mL})}{m(\text{g})} \quad (3.2.4.1)$$

donde V(mL) es el volumen en mL de la solución extractante usada en el proceso y m(g) es la masa en gramos de muestra de suelo o jal que fue sometida a extracción.

3.2.4.1. Metales extraíbles con HCl pH = 2

El método usado en el presente trabajo se diseñó basado en la metodología de extracción secuencial con HCl 0.1 mol L^{-1} , presentada por Sparks (1996)⁸⁵ (Anexo 6.1) y considerando que las concentraciones de los EPT de estudio (normalizados por masa del sólido) no muestran diferencias estadísticas al variar la relación suelo:solución como lo menciona Yang *et al.* (2009)³⁰. La relación de suelo con la solución de HCl se determinó agregando volúmenes conocidos (10 mL) de una solución de HCl 0.1 mol L^{-1} a 1 g de muestra, seguido de agitación mecánica, hasta conseguir que el pH en la solución resultante fuera 2 ± 0.2 (pH = 2) y se hubiera mantenido en este intervalo de pH en el transcurso de 90 min. Con el volumen de HCl 0.1 mol L^{-1} usado para llegar al pH de 2, se establece la relación suelo:solución, sabiendo que se usó 1 g de muestra para la evaluación. Conocida la relación suelo:solución de HCl, se realizaron los cálculos necesarios de la masa de muestra necesaria para obtener 25 mL del extracto. Los tiempos de reacción para la extracción fueron de 30 y 60 min usando agitación mecánica a $180 \text{ ciclos min}^{-1}$ y posteriores filtrados a través de membranas de $0.05 \mu\text{m}$. Los extractos se guardaron en refrigeración en frascos plásticos a temperatura entre 3 y 4°C hasta su cuantificación^{85, 86}.

3.2.4.2. Metales extraíbles con $\text{NH}_4\text{OAc } 1 \text{ mol L}^{-1}$

La relación de suelo:solución de NH_4OAc es de 1:4, se pesó en tubos plásticos de centrífuga la cantidad de muestra necesaria para obtener 25 mL de extracto. Se agitaron mecánicamente por 60 min de tiempo de reacción a $180 \text{ ciclos min}^{-1}$. Luego de la agitación,

las muestras se centrifugaron y el sobrenadante fue filtrado a través de membrana de 0.05 μm . Los extractos se almacenaron a temperatura entre 3 y 4°C hasta su determinación cuantitativa^{85, 87}.

3.2.5. Espectroscopía de emisión atómica por plasma acoplado inductivamente (*ICP-AES*, siglas en inglés)

En todas las soluciones resultantes de las extracciones en FG y con HCl a pH = 2 se cuantificaron los elementos Ca, Fe, Mn, S, As, Cd, Cu, Pb y Zn, usando la técnica por emisión atómica por plasma inductivamente acoplado (*ICP-AES*, siglas en inglés) usando un equipo THERMO IRIS INTREPID XPS, ubicado en el Laboratorio de Análisis Físicos y Químicos del Ambiente (LAFQA).

Con las condiciones instrumentales de la Tabla 3.2.5.1, los límites de detección del equipo para cada elemento analizado son los que se muestran en la Tabla 3.2.5.2, proporcionados por el LAFQA.

Tabla 3.2.5.1. Condiciones analíticas del equipo de *ICP-AES*

Flujo de la muestra	mL min ⁻¹	1.72
Flujo de gas auxiliar (Ar)	Lpm	0.5
Presión del nebulizador	Psi	30
Radio frecuencia	W	1350

Tabla 3.2.5.2. Límites de detección instrumentales del equipo de *ICP-AES*

Elemento	Ca	Fe	Mn	S	As	Cd	Cu	Pb	Zn
λ (nm)	315.8	239.5	279.4	180.7	197.2	226.5	224.7	220.3	206.2
LD (mg L ⁻¹)	0.34	0.044	0.055	0.69	0.20	0.0041	0.053	0.070	0.11

3.2.6. Espectroscopía de masas con fuente de plasma inductivamente acoplado (*ICP-MS*, por sus siglas en inglés)

Los extractos de FI resultado de las pruebas *PBET* y las extracciones con NH₄OAc se cuantificaron con la técnica *ICP-MS* en el Laboratorio de Geoquímica del Instituto de Geología en la UASLP. Los elementos que se analizaron fueron Fe, As, Cd, Cu, Pb y Zn usando un equipo THERMO SCIENTIFIC XSERIES 2.

Los límites de detección en las condiciones de la Tabla 3.2.6.1, son los que mencionan en la Tabla 3.2.6.2.

Tabla 3.2.6.1. Condiciones analíticas de operación del equipo de *ICP-MS*

Flujo de la muestra	mL min ⁻¹	0.08
Flujo de gas auxiliar (Ar)	Lpm	0.75
Radio frecuencia	W	1380

Tabla 3.2.6.2. Límites de detección (LD) instrumentales del equipo de *ICP-MS*

Elemento	As	Cd	Cu	Pb	Zn	Fe
A (uma)	75	111	65	208	66	56
LD (µg L ⁻¹)	0.018	0.014	0.021	0.008	0.589	1.92

A es el número de masa atómica expresado en unidades de masa atómica (uma)

3.2.7. Fluorescencia de rayos X (FRX)

Las concentraciones de Ca, Fe, Mn y S se cuantificaron en las muestras previamente tamizadas por malla 10 y molidas. A todos los conjuntos de muestras preparadas según la sección 3.2.1: M60M, M10M, D>60M y M400, se les determinaron las concentraciones totales de Ca, Fe, Mn, S, As, Cd, Cu, Pb y Zn.

Fue usado un equipo portátil de fluorescencia de rayos X marca THERMO modelo NITON XL-3t en modo suelo, seleccionando los tres filtros del equipo para cuantificar todos los elementos mencionados. Cada filtro realizó tres lecturas para cada punto en la muestra (tres puntos por muestra) con un tiempo de análisis de 45 s por filtro en modo suelo. Este equipo portátil de análisis por FRX se encuentra ubicado en el Laboratorio de Geoquímica Ambiental del Instituto de Geología en la UNAM.

Los límites de detección para cada elemento cuantificado se presentan en la Tabla 3.2.7.1.

Tabla 3.2.7.1. Límites de detección (LD) instrumentales del equipo de FRX THERMO NITON XL-3t

	Ca	Fe	Mn	S	As	Cd	Cu	Pb	Zn
	% (p/p)				mg kg ⁻¹				
LD	0.05 ^a	0.01 ^b	0.01 ^b	0.6 ^a	15 ^b	31 ^a	43 ^b	3.7 ^b	61 ^b

^a son los LD calculados, siendo tres veces la desviación estándar del blanco

^b valores proporcionados por el Laboratorio de Geoquímica Ambiental del Instituto de Geología de la UNAM

3.2.8. Microscopía electrónica de barrido y espectroscopía por dispersión de energía (*SEM-EDS*, por sus siglas en inglés)

Las muestras de Taxco y SLP denominadas M400 en el tratamiento de la muestra, se observaron y analizaron mediante un equipo *SEM-EDS* ambiental HITACHI TM-1000 del LAFQA. El equipo posee una magnificación entre 20 y 10000 X con zoom digital, el voltaje de aceleración fue de 15kV en modo estándar de observación. El enfoque y el brillo se ajustan automáticamente. El sistema de detección de los electrones retro-dispersados es un semiconductor de alta sensibilidad que, para el análisis *EDS*, se seleccionaron en el programa del instrumento los elementos: As, Cd, Cu, Pb, Zn, S, Fe, Ca, Si, y Al. Elementos como C y O no pudieron ser analizados porque este equipo no posee el sistema de detección adecuado para estos elementos.

3.2.9. Difracción de rayos X (DRX)

Las muestras que se seleccionaron para ser analizadas por DRX fueron la SLP-02 y SLP-05. El motivo de la selección de estas dos muestras fue que las concentraciones totales en M60M de As, Pb y Fe son similares; sin embargo, las concentraciones registradas de estos mismos elementos en FG son diferentes para cada una de ellas (SLP-05 es más bioaccesible que SLP-02), lo que podría indicar qué características mineralógicas controlan la disolución de estos EPT en la FG.

El difractograma se realizó en un Difractómetro SIEMENS D5000 equipado con monocromador y tubo de cobre en el Laboratorio de Difracción de Rayos X del Instituto de Geología de la UNAM.

Las muestras tamizadas M400 se analizaron (sin molturación) utilizando porta-muestras de aluminio (fracción no orientada) en el intervalo angular 2θ de 4° a 70° . Las mediciones fueron continuas y con una velocidad de 2° por segundo.

Los espectros de difracción obtenidos, se ingresaron en el programa MATCH! 2, que es un programa para la identificación de fases de los datos de DRX, al comparar los patrones de difracción de una muestra desconocida con los patrones de una muestra conocida almacenada en una base de datos.

En este programa es posible seleccionar los elementos que posiblemente se encuentren formando minerales y condicionar la presencia de otros. De esta manera se estableció que al menos uno de los siguientes elementos deben estar en las fases identificadas: As, Cd, Cu, Pb, Zn, H, O, S, P, C, Al, Fe, y Mn; a los elementos Na, K, Ca y Mg se les consideró como opcionales en la fase; y el resto de elementos de la tabla periódica se marcaron para que no sean considerados en los posibles minerales candidatos.

Con esta primera lista de candidatos, se fueron seleccionando uno por uno los EPT de estudio para poder encontrar qué minerales obligatoriamente tienen estos elementos. De la lista de candidatos, se seleccionaron los tres minerales más probables.

3.2.10. Analítica, aseguramiento y control de la calidad

En los análisis de FRX se determinaron las concentraciones de los EPT de estudio de dos materiales de referencia (NIST SRM 2710a y RCRA), una muestra blanco y las determinaciones se realizaron por triplicado. El material de referencia RCRA se caracteriza por tener una concentración de 500 mg kg^{-1} de As, Cd y Pb, el desvío promedio en los análisis realizados a estas muestras con respecto al valor certificado fueron de 4.7, 14.9 y 4.8% respectivamente. En la referencia SRM 2710a se obtuvieron desvíos de 5.6, 24, 7.2, 3.9 y 4.8 para As, Cd, Cu, Pb y Zn, respectivamente.

La cuantificación de los extractos de FG y con HCl a $\text{pH} = 2$ se realizaron por *ICP-AES*. El laboratorio no cuenta con material de referencia para el control del método; sin embargo, el control de calidad del análisis se realizó al cuantificar los estándares de calibración de 1 y 10 mg L^{-1} de concentración de los EPT de estudio. Los desvíos de los valores de las concentraciones de los elementos investigados estuvieron en el intervalo de 0.39 a 9.8%, para todos los EPT y en ambas concentraciones en las que se realizó la corroboración.

Las extracciones en FI y con $\text{NH}_4\text{OAc } 1 \text{ mol L}^{-1}$ se analizaron por *ICP-MS*. No se citan los procedimientos de control de calidad para estas muestras debido a que el laboratorio en donde se realizaron los análisis no los facilitó.

3.2.11. Análisis estadístico

Para evaluar la variabilidad de los resultados en las cuantificaciones de las concentraciones totales y en las extracciones realizadas en las muestras, se calcularon los coeficientes de variación (CV) a partir de los promedios y las desviaciones estándar para cada muestra. Se aceptó un CV menor al 20% tal como lo sugiere la Norma Oficial Mexicana SEMARNAT (2004)⁸⁸.

El análisis de correlación de Pearson se realizó al comparar los resultados de los parámetros físicos y químicos, con las concentraciones totales de EPT en las partículas de suelo $< 250 \mu\text{m}$ y en los extractos de FG y FI. Los valores de coeficiente de correlación se compararon con los que se encuentran en tablas con una significancia del 1 y 5%, con $n-2$ grados de libertad⁸⁹.

Los valores de significancia mayores al encontrado en tablas al 1%, se consideraron como parámetros que están fuertemente correlacionados. Se encontró que en los sitios de estudio la correlación se vio influenciada por los valores que resultaron muy grandes, por lo que un análisis de las gráficas de las correlaciones calculadas ayudó a ver qué parámetros presentan verdaderas correlaciones entre sus resultados. Los gráficos de estas correlaciones se encuentran en el Anexo 6.2.

Las comparaciones entre las concentraciones totales de EPT entre los dos tamaños de partícula obtenidos del tratamiento de las muestras ($< 2\text{mm}$ y $< 250 \mu\text{m}$; Sección 3.2.1), las extracciones en FG con las extracciones con HCl a $\text{pH} = 2$, y las concentraciones en FI con los extractos en $\text{NH}_4\text{OAc } 1 \text{ mol L}^{-1}$; se realizaron usando el método de regresión lineal. En

el eje de las abscisas (eje x) se ubicaron a las concentraciones de EPT en las partículas < 2 mm, los solubles en HCl a $\text{pH} = 2$ y en NH_4OAc 1 mol L^{-1} ; en el eje de las ordenadas (eje y) se ubicaron a las concentraciones en la partículas $< 250 \mu\text{m}$, los extractos en FG y FI, respectivamente. Para los tres casos de comparación se esperaba que se produjeran resultados idénticos, es decir, que la intersección con el eje de las ordenadas fuera cero y, que la pendiente y el coeficiente de correlación tuviera el valor de la unidad⁹⁰. Cualquier desvío de los valores ideales con una significancia del 5% ayudó a determinar cómo se relacionan los EPT de estudio en cada uno de los casos mencionados y a establecer las ecuaciones que las relacionan, en el caso de que las correlaciones existieran.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Análisis físicos y químicos de suelos y jales

La determinación de las propiedades físicas y químicas para las dos localidades estudiadas (Taxco y San Luis Potosí) se realizaron en las muestras que fueron tamizadas por malla 10 (tamaño de partícula menor que 2 mm). Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 4.1.1. Debe aclararse que, en Taxco, los códigos de muestra TSF corresponden a suelos recolectados, mientras que TJF son muestras de jales. Los códigos de San Luis Potosí están dados por SLP y corresponden a suelos contaminados con residuos minero-metalúrgicos.

Tabla 4.1.1. Resultados de los análisis físico-químicos de las muestras de Taxco y San Luis Potosí

Muestra	pH	CE mS cm ⁻¹	CIC cmol _c kg ⁻¹	Arcillas	Ca	Fe	Mn	S	CIT	COT
% (p/p)										
Taxco										
TJF – 01	7.2	2.1	< 1.5	5.0	6.1	25	1.0	17	9.7	1.2
TJF – 02	7.6	2.3	< 1.5	5.0	5.9	18	1.1	7.4	14	1.7
TJF – 03	7.6	2.2	< 1.5	5.0	6.9	15	0.95	7.0	18	1.8
TSF – 04	7.7	0.12	6.5	5.0	1.3	4.1	0.10	< 0.6	1.3	2.4
TSF – 05	8.1	0.13	4.7	5.0	5.9	3.7	0.072	< 0.6	7.4	2.7
TSF – 06	7.6	0.87	3.8	4.9	2.8	15	1.2	< 0.6	5.0	1.5
TSF – 07	7.7	2.0	< 1.5	2.9	8.0	8.7	0.37	4.4	14	1.9
TSF – 08	8.2	0.15	< 1.5	3.0	6.0	13	0.93	3.2	10	1.7
TJF – 09	3.3	2.3	< 1.5	3.0	2.8	20	0.10	18	0.10	1.9
TSF – 10	8.2	0.16	7.3	3.0	12	2.8	0.034	< 0.6	19	3.4
San Luis Potosí										
SLP – 01	6.8	0.71	7.8	3.0	0.50	2.3	0.054	< 0.6	0.92	2.2
SLP – 02	4.8	1.0	< 1.5	2.9	0.48	3.7	0.051	5.5	0.29	0.93
SLP – 03	5.7	0.31	< 1.5	3.0	0.74	6.3	0.042	12.4	0.47	1.0
SLP – 04	5.3	1.7	< 1.5	3.0	1.1	3.3	0.13	4.7	0.29	1.0
SLP – 05	6.6	0.29	1.9	2.9	1.7	4.1	0.060	8.2	1.2	1.4
SLP – 06	10	20	6.8	3.0	2.9	10	0.51	14	11	2.3
SLP – 07	6.2	2.4	< 1.5	3.0	1.3	11	0.18	16	0.28	1.8
SLP – 08	6.8	0.20	3.1	3.0	0.64	2.1	0.031	2.4	0.20	1.3
SLP – 09	6.0	5.4	< 1.5	3.0	0.82	7.7	< 0.01	42	7.0	4.5

Los valores marcados con < corresponden al límite de detección del equipo para el elemento

En este punto se procede a hacer discusiones con respecto a las propiedades de las muestras y cómo éstas se correlacionan para dar una idea del posible comportamiento de estos suelos. Los gráficos de las correlaciones que se pudieron encontrar entre los parámetros

físico-químicos y los contenidos de elementos mayores, se encuentran en la Figura 6.2.1 del Anexo 6.2.

4.1.1. pH

Taxco resultó en un pH promedio de 7.3 ± 1.4 considerando los suelos y los jales conjuntamente. Los mayores valores se presentaron en TSF-08 y TSF-10 con un valor de 8.2 para cada una de ellas. El menor valor se registró para TJF-09 con un pH de 3.3; esta muestra corresponde a un jal oxidado no neutralizado, siendo ésta la razón de su bajo valor de pH. Los residuos mineros normalmente son tratados con carbonato de calcio (jal gris, pH > 7 ; TJF-01, TJF-02 y TJF-03), si el terreno en el que se depositan no lo contiene en concentraciones suficientes para evitar que el drenaje ácido de mina generado en los procesos oxidativos de estos residuos que se encuentran expuestos al ambiente, provoque la liberación de elementos potencialmente tóxicos que podrían infiltrarse por el suelo, causando la contaminación de las aguas subterráneas. Si el potencial de acidificación supera el de neutralización, los carbonatos agregados se agotan, provocando que los ácidos resultantes del proceso redox entre el jal y el O_2 del aire, formen ácido sulfúrico (H_2SO_4)⁹¹, con lo que el pH del jal oxidado baja, como es el caso de la muestra TJF-09.

En San Luis Potosí se tuvieron valores de pH variables, encontrándose éstos en el intervalo de 4.8 a 10. La muestra SLP-06 presentó el mayor pH sugiriendo una alta contaminación por residuos alcalinos, y el menor valor registrado fue correspondiente a SLP-02.

En el análisis de correlación de los suelos, no se pudieron observar correlaciones significativas entre el pH y los demás parámetros del suelo en los dos sitios de estudio.

4.1.2. Conductividad eléctrica (CE)

En Taxco, se observó claramente que los suelos tienen valores de CE considerablemente menores que los jales (excepto el TSF-07). El promedio de suelos excluyendo a éste último fue de 0.29 ± 0.3 mS cm^{-1} , mientras que para jales fue alto y bastante constante de 2.2 ± 0.1 mS cm^{-1} . El valor de TSF-07 de 2.0 mS cm^{-1} lleva a sospechar que se trata de un suelo altamente contaminado por jales.

Para San Luis Potosí, el intervalo de CE fue muy variable, de 0.20 a 20 mS cm^{-1} , valores que pertenecen a SLP-08 y SLP-06 respectivamente. El valor más alto lo presentó la misma muestra con el pH anormalmente elevado, lo cual apoya la sospecha de su contenido alto de residuos alcalinos. Sin embargo, el pH de la muestra con el siguiente valor de CE elevado de 5.4 mS cm^{-1} , fue de solamente 6 (SLP-09). Por tanto, si la CE es mejor indicativa de contaminación externa por residuos, es claro que no todos los residuos necesariamente contienen componentes alcalinos. Al no incluir estas dos muestras con altos valores de CE, se encontró que los valores para el resto de muestras de SLP correlacionan fuertemente con la concentración de Mn ($r = 0.95$).

La CE proporciona información acerca de los compuestos que pueden disolverse de una muestra en medio acuoso y éstos corresponden a componentes mayores como Na^+ , K^+ , y en menor medida Ca^{2+} , y Mg^{2+} , pero no a EPT. Por lo tanto directamente no se puede inferir nada con respecto a sus contenidos de EPT; sin embargo, indirectamente puede esperarse que el origen contaminante de los EPT sea el mismo que el de las sales solubles y, por tanto, es de esperarse una correlación entre CE y los contenidos de EPT, lo cual se explorará más adelante.

4.1.3. Capacidad de intercambio catiónico (CIC) y contenido de “arcillas”

Recordando que la capacidad de intercambio de iones en un suelo se refiere al número máximo de moles de carga catiónica adsorbida que puede ser desorbida de una cantidad de suelo bajo condiciones dadas de temperatura, presión, composición de la solución de suelo, y la relación suelo/solución, estos cationes son adsorbidos en las superficies de las partículas del suelo, normalmente arcillas y material húmico, vía mecanismos de complejación de esfera externa y de capa iónica difusa (unidos electrostáticamente)¹.

No se pudieron encontrar correlaciones significativas entre la CIC y los demás resultados de parámetros del suelo en las dos localidades.

Los jales de Taxco presentaron valores de CIC menores que $1.5 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ (Tabla 4.1.1). Aunque presentan los contenidos de arcillas más elevados de todas las muestras, como es de esperarse en jales, el método en realidad es granulométrico, por lo que no distingue arcillas químicas reales de otros minerales de tamaño de partícula pequeño, como óxidos metálicos, carbonatos, etc. De esto se infiere que los minerales de que están compuestos los jales son muy finos (de $2 \mu\text{m}$ de diámetro y menores) pero no tienen capacidad de retención de cationes, por lo que lo más probable es que no contengan cantidades apreciables de arcillas químicas.

Los suelos de Taxco mostraron valores de CIC muy variables (de 3.8 a $7.3 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$; TSF-07 y 08 tienen CIC menores que $1.5 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$), pero sin correlación con el contenido de arcillas. Esto puede ser también un indicador del grado de contaminación por jales: suelos con un alto contenido de “arcillas” pero baja CIC, probablemente presentan alta contaminación por jales (en contraste, de las muestras con altos valores de ambos no se puede descartar su contaminación por jales, pues el suelo naturalmente puede contener mucha arcilla real). Esto es consistente con el alto valor de CE observado en la muestra TSF-07, pero no con el bajo valor de CE de la TSF-08.

SLP también presentó una alta variabilidad de la CIC a pesar de un contenido casi constante de arcillas granulométricas, con valores desde $< 1.5 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$, hasta 7.8 y $6.8 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ para SLP-01 y SLP-06 (Tabla 4.1.1). Se puede observar que las muestras con valores de CE altos (desde 1.7) tienen una CIC muy baja (excepto la muestra de pH alto SLP-06). Parecería entonces que, si la CE es indicativa de la contaminación por residuos

metalúrgicos, dichos residuos no contienen concentraciones apreciables de arcillas químicas, a excepción de la muestra SLP-06, mientras que los suelos originales tienen una alta variabilidad de contenido arcilloso.

4.1.4. Análisis químico elemental

Los resultados de los porcentajes en masa de los elementos químicos que son reportados en los análisis rutinarios de suelos, se presentan en la Tabla 4.1.1 ya mencionada y se discute cada uno de ellos.

4.1.4.1. Carbono inorgánico total (CIT)

En los suelos, el carbono inorgánico (CI) se encuentra principalmente como especies carbonatadas $[(\text{CO}_3)^{2-}]$ y bicarbonatadas $[(\text{HCO}_3)^-]$. Estas especies son las principales responsables de la regulación del pH de los suelos. De este modo, si una muestra presenta un pH elevado se puede suponer que se debe a un alto contenido de especies carbonatadas. El CIT en un suelo se refiere a la cantidad en gramos de especies $(\text{CO}_3)^{2-}$ y de $(\text{HCO}_3)^-$ que se pueden encontrar en cien gramos de muestra. Así, para Taxco los contenidos de CIT fueron en general altos, tanto para suelos como para jales, variando entre 5% y 19%, a excepción del suelo TSJ-04 (1.3%), y para el jal oxidado TJF-09 con 0.10%, que es lo esperado para este último, debido a su bajo pH (3.3).

En SLP se presentaron valores de CIT por lo general muy inferiores a las de Taxco (menores a 1.2%), lo cual es congruente con sus bajos valores de pH. Sólo la muestra de pH 10 (SLP-06) mostró un valor de 11%, y la muestra SLP-09 de 7%.

En el análisis de correlaciones resultó que el CIT está fuertemente relacionado con el contenido de Ca en los suelos ($r = 0.97$) y jales ($r = 0.95$) evaluados en Taxco, lo cual puede explicarse por la presencia de CaCO_3 (calcita) en esta localidad. En SLP, el CIT no se correlacionó con ningún parámetro analizado del suelo.

4.1.4.2. Carbono orgánico total (COT)

Se conoce como materia orgánica del suelo (MOS) al conjunto de residuos orgánicos de origen animal y/o vegetal, que se encuentran en diferentes etapas de descomposición y se acumulan, tanto en la superficie como dentro del perfil del suelo. Además, incluye una fracción viva, o biota, que participa en la descomposición y transformación de los residuos orgánicos. El carbono orgánico (CO) es el principal elemento que forma parte de la materia orgánica. Por esto es común que ambos términos se confundan o se hable indistintamente de uno u otro. Al respecto cabe señalar que los métodos analíticos determinan el carbono orgánico total (COT) (calcinación húmeda o seca) y que la MOS se estima a partir del COT multiplicado por factores empíricos. El factor de transformación de COT a MOS puede variar entre 1.9 para suelos superficiales y 2.5 para muchos subsuelos. Como existe una considerable variación entre diferentes suelos y horizontes en el factor de conversión COT-

MOS, es preferible informar el valor de COT sin transformar⁹² que son los valores presentados en la Tabla 4.1.1.

El promedio de COT en los suelo de Taxco fue de $2.3 \pm 0.7\%$ y en los jales $1.7 \pm 0.3\%$, teniendo los suelos un contenido mayor de COT que los jales. Sin embargo, el contenido de COT en los jales debería ser mucho menor por su naturaleza. Estos valores de COT anormales se deben a que el método por calcinación se ve afectado por el contenido de S que, para los jales, es muy elevado.

SLP resultó en contenidos de COT en el intervalo de 0.93 a 4.5 %, que indica una gran variabilidad de COT en esta localidad al compararla con Taxco.

El análisis de correlaciones mostró que en los suelos de Taxco, el COT tiene relación moderada negativa con los contenidos de Fe ($r = -0.92$) y Mn ($r = -0.86$). De los gráficos de estas correlaciones se observa que en los dos casos no son lineales; sin embargo, la relación de disminución de Fe y Mn con el incremento de COT es evidente.

4.1.4.3. Calcio (Ca)

El Ca en los suelos está mayoritariamente contenido en minerales en forma de carbonatos de Ca y estos minerales amortiguan el pH del suelo a valores alcalinos.

Las localidad de Taxco ($1.1 \pm 0.8\%$) mostró contenidos de Ca cinco veces mayor que SLP ($5.8 \pm 3\%$). En los suelos de Taxco existe una alta correlación positiva entre Ca y CIT ($r = 0.97$) estando los valores de pH en el intervalo de 7.7 a 8.2. En los jales de este mismo sector la correlación entre dos parámetros resulto ser directa y moderada ($r = 0.95$). Los valores de pH son todos arriba 7.2, excepto para la muestra de jal ácido TJF-09. En el caso de SLP, sólo la muestra con pH de 10 tiene una contenido relativamente alto de Ca, pero muy alto de CIT, lo que sugiere que debe contener también carbonatos solubles, como los de sodio.

Este elemento se puede encontrar también como Ca estructural, esta fracción representa a la porción de Ca que puede ser intercambiada; asociado al humus del suelo, sorbida a partículas formando complejos de intercambio y se le puede asociar con la CIC de los suelos. Sin embargo en este estudio no se pudo encontrar correlación entre estos dos parámetros, probablemente porque su enlace con carbonatos predomina y los fenómenos anteriores son menores y producen la variabilidad observada con respecto a una correlación perfecta con CIT.

4.1.4.4. Hierro (Fe)

Los contenidos de Fe total en las dos localidades son bastante altos, pero considerablemente mayores para Taxco que para SLP (12.5 ± 7.5 vs. 5.6 ± 7.5). En el caso de Taxco, los valores en jales son mucho mayores (más del doble en promedio) que en suelos, lo cual es un reflejo del alto contenido inicial de pirita (FeS_2) en residuos de jales mineros. En suelos,

los valores son de cualquier forma mayores que los de SLP, probablemente por la contaminación proveniente de los jales que son altos en Fe.

La muestra TJF-09 presenta una coloración amarillenta debido a la presencia de compuestos de Fe^{3+} , a diferencia de los jales grises (TJF-01 a 03), cuya coloración se debe a la presencia de minerales que contienen Fe^{2+} que, con el paso del tiempo y a procesos redox, al estar en contacto con la atmósfera irán tomando la coloración característica de un jal oxidado. En la Figura 4.1.4.4.1 se pueden apreciar estas diferencias en el color de los jales durante la recolección y preparación de las muestras.

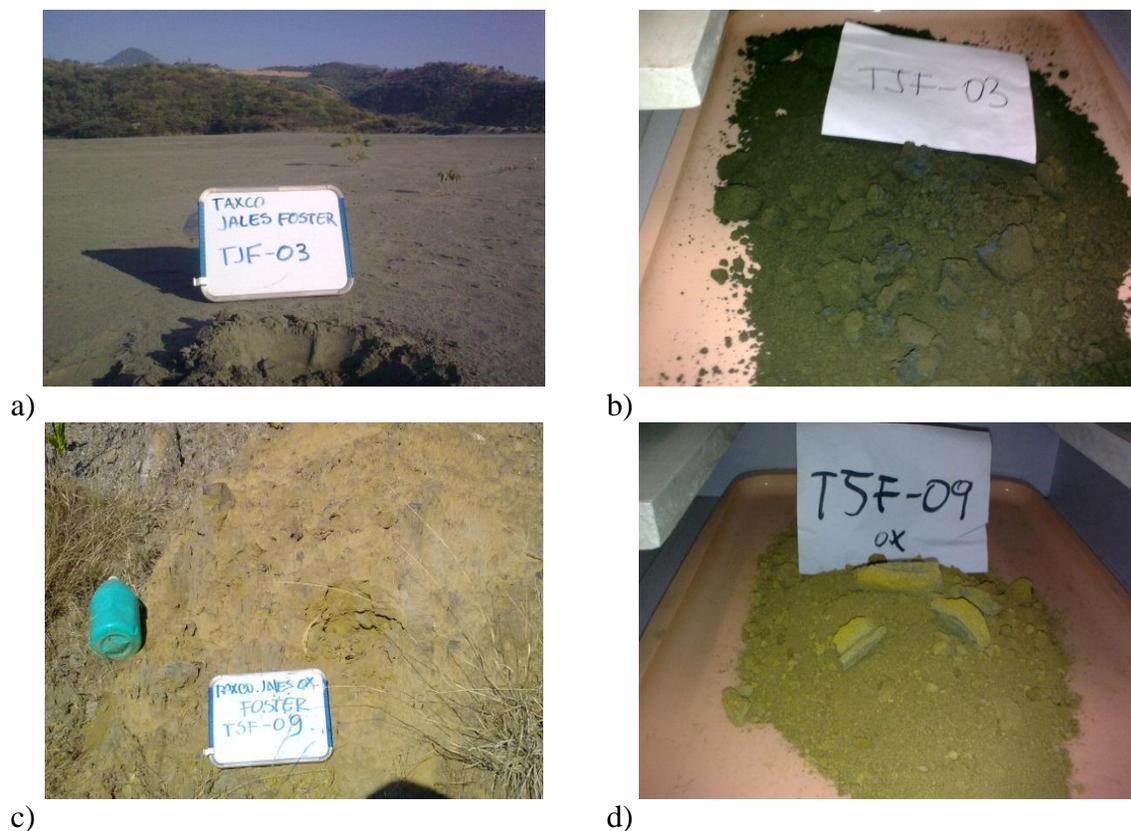


Figura 4.1.4.4.1. Muestras de los jales grises (a y b) y oxidados (c y d). Se pueden evidenciar las diferencias de coloración que existen entre cada una de ellas debido a procesos de oxidación del Fe

La Figura 4.1.4.4.1 d) es un jal oxidado durante la fase de preparación de la muestra; se pueden observar varios agregados que en su parte externa presentan la coloración típica de los compuestos de Fe^{3+} , pero en su interior es de color gris debido a los compuestos de Fe^{2+} que, por estar en la parte interna de los agregados, no han tenido el contacto con el oxígeno del ambiente como para ser oxidado hasta Fe^{3+} .

Es bien conocido que los óxidos de Fe amorfos poseen puntos de carga altos, por lo que son ideales adsorbentes de aniones a valores de pH de ligeramente alcalinos hacia abajo. Sin

embargo, también tienen la capacidad de adsorber cationes de metales pesados en sus superficies, pero no de metales alcalinos y alcalino-térreos, por lo que no contribuyen de manera significativa en la CIC.

4.1.4.5. Manganeso (Mn)

En Taxco se encontraron concentraciones de Mn en el intervalo de 0.034 a 1.2%, correspondientes a TSF-10 y TSF-06 respectivamente. El promedio de concentración de Mn en este sector fue de 0.58%.

Para San Luis Potosí el promedio se calculó en 0.13%. La muestra SLP-09 mostró una concentración menor al límite de detección del método usado ($LD_{Mn} = 0.01\%$) y la mayor concentración se ubicó en SLP-06 con un valor de 0.51%.

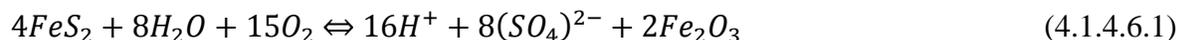
Los minerales amorfos de Mn (III) y (IV) aportan sitios activos en sus superficies y estructuras internas sobre los cuales cationes de EPT pueden ser sorbidos. Sin embargo, no se observa correlación entre el Mn y la CIC. Esto puede deberse a su baja concentración en comparación con arcillas y materia húmica.

La única correlación importante que se encontró fue entre Mn y Fe para los suelos de Taxco ($r = 0.98$), lo cual revela su origen común en los suelos. Los jales no mostraron correlación entre estos dos elementos; sin embargo, al comparar las concentraciones de los jales grises con el oxidado se aprecia que son mucho mayores. Esto es debido a que al pH ácido de los jales oxidados, el Mn se vuelve más soluble y se remueve del jal.

4.1.4.6. Azufre (S)

El azufre en los suelos puede encontrarse en forma de sulfuros (S^{2-}) y de sulfatos (SO_4^{2-}), cada una de estas especies forma, con los metales, compuestos de diversa solubilidad dependiendo del catión asociado.

En Taxco los jales mostraron concentraciones muy superiores de S total variando entre 7% y 18%. En los suelos, los valores no fueron detectables ($LD_S = 0.6\%$) excepto en TSF-07 y TSF-08 con porcentajes relativamente altos de 4.4% y 3.2%, respectivamente. Se espera que en los jales las concentraciones de S se deban a las especies S^{2-} , con excepción de la TJJF-09, que al ser un jal oxidado, los procesos redox han transformado al S^{2-} en SO_4^{2-} según la siguiente reacción en la que se reduce el Fe:



La liberación de protones como producto de la reacción y la falta de material neutralizante, como $CaCO_3$, es la razón del bajo valor de pH en esta muestra ($pH = 3.3$) y la posibilidad de una alta disponibilidad de los EPT.

En suelos de SLP los valores fueron muy variables pero relativamente altos en casi todas las muestras, de 2.4% a 16% (el valor de 42% parece ser un error pues indicaría que casi la mitad de la muestra está compuesta de azufre). Con mayor probabilidad este azufre se encuentra en la forma oxidada de sulfato en estos suelos.

No se pudieron apreciar correlaciones entre los parámetros de rutina realizados y el contenido de S total en Taxco. En SLP la única correlación que se encontró fue entre en S y el Fe ($r = 0.96$). Debido a las características del sector el S, puede estar en su forma oxidada $[(SO_4)^{2-}]$ formando minerales tipo jarosita $[KFe_3(SO_4)_2(OH)_6]$.

4.2. Concentraciones semitotales de los EPT en la fracción de muestra menor a 250 μ m

Las concentraciones totales de los elementos traza de estudio, analizadas en las partículas menores a 250 μ m por fluorescencia de rayos X (FRX) se muestran en la Tabla 4.2.1. Adicionalmente, se presentan las concentraciones totales de elementos mayores Ca, Fe, Mn y S. Las concentraciones totales de los EPT en esta fracción del conjunto de muestra, son usadas en el cálculo del porcentaje de bioaccesibilidad¹⁵. El procedimiento de cálculo y su uso en el cálculo de riesgo a la salud se discute más adelante.

Al comparar las concentraciones de los elementos analizados en los jales puede observarse un comportamiento particular, especialmente del Fe, As y Pb. Se conoce que un jal oxidado, debido a procesos redox al estar en contacto con el oxígeno del aire, con el transcurso del tiempo el drenaje ácido producido en la reacción consume el carbonato agregado para neutralizar a este ácido, de ahí el pH ácido de la muestra TJF-09 (3.3). Lo esperado es que, debido a estos mismos procesos redox y la acidificación del medio en el sitio, los EPT en esta muestra tuvieron valores más bajos que los jales grises porque, a bajos valores de pH, los elementos se vuelven más solubles pudiendo ser lavados por el agua de lluvia produciendo el decremento de las concentraciones de los EPT en estudio. Sin embargo, lo que se aprecia al comparar TJF-01 (que contiene los valores más elevados de todos los elementos analizados) con TJF-09 es que el Ca, Mn, Cd, Cu y Zn presentan un decremento de la concentración entre estas dos muestras, indicando que el agua de lluvia ha arrastrado consigo a estos metales. En cambio, las concentraciones de Fe, S y As se muestran similares y el Pb incrementa su concentración. Esto podría ser debido a la formación de minerales de estos cuatro elementos que son poco solubles a pH ácido.

La muestra TSF-10 mostró las más bajas concentraciones de la mayoría de los elementos cuantificados, con la excepción del Ca que, como ya se indicó, es debido a la presencia dominante de calcita ($CaCO_3$). Pudo observarse también que los dos suelos TSF-07 y 08 presentaron las más altas concentraciones de los EPT de estudio, siendo otro indicativo de contaminación del suelo por parte de los contaminantes del jal que pudieron ser arrastrados por el viento en dirección a estos dos puntos muestreados. Los EPT en los jales siguieron la

Tabla 4.2.1. Concentraciones totales de elementos en las muestras recolectadas de Taxco y San Luis Potosí tamizadas para obtener partículas menores a los 250 µm analizadas por FRX. Entre paréntesis se muestran las desviaciones estándar de las mediciones

Muestra	Ca	Fe	Mn	S	As	Cd	Cu	Pb	Zn
	% en masa (S)				mg kg ⁻¹ (S)				
Taxco									
TJF – 01	5.8 (0.15)	26 (0.35)	1.0 (0.020)	16 (0.55)	1628 (170)	347 (3.3)	298 (36)	667 (33)	27188 (632)
TJF – 02	5.9 (0.071)	19 (0.22)	1.1 (0.013)	5.9 (0.50)	1079 (12)	39 (2.6)	79 (17)	375 (6.8)	2760 (38)
TJF – 03	7.1 (0.082)	16 (0.17)	1.0 (0.013)	6.5 (0.55)	966 (42)	55 (3.1)	97 (8.2)	399 (5.1)	3983 (106)
TSF – 04	1.5 (0.0089)	5.0 (0.14)	0.13 (0.0089)	< 0.6	163 (3.7)	< 3.2	54 (3.7)	105 (2.7)	543 (21)
TSF – 05	4.2 (0.15)	4.3 (0.10)	0.10 (0.0062)	< 0.6	184 (2.4)	< 3.2	62 (11)	89 (7.8)	465 (5.9)
TSF – 06	2.6 (0.037)	20 (0.50)	1.8 (0.064)	2.4 (0.14)	1052 (5.3)	32 (2.3)	80 (8.4)	600 (7.7)	2821 (52)
TSF – 07	6.7 (0.090)	13 (0.44)	0.54 (0.021)	5.8 (0.23)	2669 (46)	51 (5.3)	136 (9.0)	635 (7.2)	4332 (49)
TSF – 08	4.6 (0.087)	22 (0.75)	1.6 (0.014)	4.9 (0.49)	4252 (192)	54 (2.2)	106 (18)	1056 (13)	5073 (99)
TJF – 09	1.9 (0.046)	26 (1.3)	0.13 (0.0047)	12 (0.80)	1620 (36)	< 3.2	73 (12)	1367 (44)	1260 (39)
TSF – 10	12 (0.069)	2.8 (0.010)	0.039 (0.0021)	< 0.6	41 (3.4)	< 3.2	52 (4.2)	93 (3.4)	285 (28)
San Luis Potosí									
SLP – 01	0.51 (0.020)	2.0 (0.016)	0.044 (0.0014)	1.7 (0.15)	707 (17)	178 (15)	754 (25)	990 (39)	5867 (283)
SLP – 02	0.51 (0.0075)	4.0 (0.11)	0.051 (0.0054)	6.2 (0.53)	10124 (405)	247 (25)	1767 (157)	10411 (199)	2758 (70)
SLP – 03	0.69 (0.0062)	6.9 (0.11)	0.047 (0.0067)	12.9 (0.49)	6163 (133)	343 (18)	19291 (775)	10062 (163)	6439 (284)
SLP – 04	1.1 (0.037)	3.6 (0.17)	0.14 (0.012)	5.2 (0.63)	35544 (4093)	541 (44)	2724 (409)	7387 (772)	4663 (705)
SLP – 05	1.4 (0.0058)	5.3 (0.10)	0.076 (0.0010)	7.9 (0.16)	12227 (267)	1212 (150)	17092 (444)	10939 (253)	8478 (147)
SLP – 06	2.8 (0.026)	11 (0.32)	0.52 (0.018)	13 (0.42)	47632 (2111)	2259 (91)	22086 (378)	30737 (289)	102747 (5997)
SLP – 07	1.4 (0.032)	12 (0.13)	0.16 (0.0018)	17 (0.63)	18561 (151)	3257 (233)	40654 (1001)	17811 (456)	29225 (1121)
SLP – 08	0.61 (0.021)	2.3 (0.12)	0.026 (0.0018)	2.8 (0.54)	1702 (54)	63 (3.1)	5388 (178)	3133 (76)	1770 (107)
SLP – 09	0.79 (0.016)	8.0 (0.17)	< 0.01	40 (2.0)	636838 (15591)	35638 (2173)	47606 (901)	217522 (6638)	266628 (9321)

Los valores que se observan junto a < corresponden al límite de detección del equipo para el elemento

secuencia $Zn > As > Pb > Cu \approx Cd$. La tendencia fue similar en los suelos de Taxco siendo $Cu > Cd$.

En SLP la muestra con menores concentraciones de EPT fue la SLP-01 con excepción de Zn. Esta muestra corresponde a un suelo típico del sector que, al compararla con el resto de muestras recolectadas en este sitio, indica el nivel de contaminación de estos suelos. Las excesivas concentraciones de EPT registradas en la muestra SLP-09 son debidas a que se trata de un residuo de los procesos que se realizan en la planta metalúrgica. En general, los EPT en SLP mostraron la siguiente tendencia $As > Zn > Pb > Cu > Cd$.

4.2.1. Correlaciones entre las concentraciones totales de EPT y elementos mayores en las partículas < 250 μm con los parámetros físico-químicos

Se realizaron los análisis de los coeficientes de correlación de Pearson entre las concentraciones de los elementos analizados en las partículas de tamaño menor que 250 μm (Tabla 4.2.1) y los valores de los análisis de los parámetros físico-químicos (Tabla 4.1.1). Los gráficos de las correlaciones se encuentran en la Figura 6.2.2 del Anexo 6.2.

En los suelos de Taxco no pudieron encontrarse correlaciones significativas entre los parámetros físico-químicos realizados y las concentraciones de los elementos analizados en las partículas < 250 μm . No obstante, todos los EPT de estudio se correlacionaron positivamente con las concentraciones de Fe y Mn (r entre 0.98 y 0.99). En los jales de Taxco, se pudieron encontrar correlaciones negativas perfectas ($r = -1$) entre las concentraciones de S, Cd, Cu, Pb y Zn en las fracciones < 250 μm y el pH de los jales grises. Correlaciones perfectas positivas ($r = 1$) se registraron al comparar el S con el Cd y Zn, y moderadamente significativas positivas entre el S con el As, Pb y Cu; entre el As y el Fe también se encontró una correlación moderadamente significativa con el As ($r = 0.99$). Estas correlaciones no son concluyentes debido al limitado número de muestras de este tipo de jales que se analizaron. En las gráficas realizadas de estas correlaciones se observó que una de las tres muestras resultó con una concentración mucho mayor que las otras dos, que son muy cercanas. Esto hace que el elevado valor de una de ellas sea el que determine esta correlación, por lo que no podrían usarse estos valores para dar una explicación.

Al analizar las correlaciones de los parámetros físico-químicos de SLP pudo encontrarse una fuerte correlación positiva entre la CE y el Mn (sección 4.1.2). Esta misma correlación se volvió a observar entre el Mn de las partículas más pequeñas y la CE ($r = 0.90$), que es lo esperado debido a que el Mn en los dos distintos tamaños de partícula tiene una correlación perfecta. Se pudo observar que el Fe se correlaciona positivamente con las concentraciones de Cd, Cu, Pb y Zn en esa fracción más fina (valores de r en el intervalo de 0.83 y 0.94). Las correlaciones positivas significativas que se encontraron entre el S y el Cd, Cu y Pb es algo que debe mencionarse también (r entre 0.82 y 0.92).

4.2.2. Correlaciones entre los contenidos de EPT en la fracción de muestra < 250 μm

Se realizaron las correlaciones entre las concentraciones totales encontradas en las partículas < 250 μm (Tabla 4.2.1). Las gráficas de las correlaciones que se obtuvieron se encuentran en la Figura 6.2.5 del Anexo 6.2.

En los suelos de Taxco, el Cu y Pb tuvieron fuertes correlaciones positivas con las concentraciones de Fe y As (valores de $r > 0.92$); sin embargo, no se determinó una correlación fuerte entre Fe y As ($r = 0.62$). Se pudo encontrar que el As, Pb y Zn se correlacionan entre sí ($r > 0.95$). Adicionalmente, se observaron correlaciones moderadas entre el Mn y Pb ($r = 0.83$) y entre Zn y Cu ($r = 0.91$). Las correlaciones que se obtuvieron con los jales de Taxco fueron del Cd, Cu y Zn entre sí ($r = 1$). El Fe y el As también se correlacionan de manera perfecta y positiva; sin embargo, al considerar sólo a los jales grises esta correlación se vuelve moderada ($r = 0.99$). Teniendo en cuenta a los jales grises hubo correlaciones perfectas directas entre sí con Cd, Cu, Pb, Zn y S. El hecho de no encontrar fuertes correlaciones entre Fe, As y S (valores de r entre 0.95 y 0.99) no es un indicativo claro de la no presencia de pirita (FeS_2) o arsenopirita (FeAsS) debido al limitado número de muestras analizadas ($n = 3$).

En SLP, los elementos que se correlacionaron entre sí de manera directa y significativa fueron el Fe, Cd, Cu y Pb ($r > 0.89$). El Zn y el Cd se correlacionaron fuertemente ($r = 0.98$); sin embargo, la correlación del Fe con el Zn ($r = 0.90$) pese a que es fuerte (en valor), al ser graficada no se observó una clara correlación (Figura 6.2.5 del Anexo 6.2). El Cu se correlacionó directa y fuertemente con el S ($r = 0.93$), se encontró una correlación moderada entre Pb con S ($r = 0.75$) y fuerte entre el Fe y S ($r = 0.95$).

Las correlaciones entre elementos pueden significar presencia simultánea sin asociación química entre ellos o con asociación mineral específica. Si la asociación es por medio de la formación de un mineral cristalino, ésta se podrá confirmar mediante el análisis por difracción de rayos X (DRX). Si se forman minerales amorfos, o si la asociación es por fenómenos de adsorción a superficies minerales, entonces la confirmación se vuelve algo más difícil y requiere de evidencias indirectas.

Finalmente, según la NORMA Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, las concentraciones totales de referencia para suelos de uso agrícola, residencial o comercial para los elementos estudiados en este trabajo son 22 mg As kg^{-1} , 37 mg Cd kg^{-1} y 400 mg Pb kg^{-1} . Sobre estas concentraciones se debe proceder con la remediación del sitio si éste tiene una superficie menor a los 1000 m^2 ⁸⁸. Los promedios de las concentraciones de estos tres elementos para cada una de las localidades estudiadas, fueron superiores a las concentraciones de referencia por lo que estos suelos necesitan de remediación. Tradicionalmente, los criterios para la evaluación y remediación de sitios contaminados se han basado en suponer que el 100% de los contaminantes son biodisponibles, es decir, que

la concentración total de un contaminante que podría ser ingerido pasa al sistema circulatorio. Sin embargo, los resultados encontrados por Juhasz *et al.* (2007)⁹³ y en otros estudios *in vitro* claramente indican que la bioaccesibilidad de los contaminantes en los suelos es significativamente menor que el 100% y que depende de una variedad de parámetros (pH del suelo, especiación del elemento, contenido de Fe y mineralogía, envejecimiento del suelo, etc.). El suponer que el 100% del elemento vinculado con el suelo es biodisponible puede sobre-estimar el riesgo potencial a la exposición de tal elemento para muchos sitios, que podrían impactar considerablemente en las decisiones de remediación y manejo, y costos asociados^{93, 94}. En este punto es donde aparecen las evaluaciones de la bioaccesibilidad las que podrían ayudar a proporcionar una mejor visión de la peligrosidad de un sitio para la salud humana.

4.3. Bioaccesibilidad y extracciones simples

4.3.1. Bioaccesibilidad

Ya se ha indicado que la bioaccesibilidad de un elemento se refiere a la concentración que se disuelve en los volúmenes pre-establecidos de las soluciones de las fases gástrica (FG) e intestinal (FI), y que posteriormente puede ser absorbido para ingresar en el sistema circulatorio de un ser vivo. En los últimos 20 años se han desarrollado diversos métodos para la evaluación *in vitro* de la bioaccesibilidad de EPT de As^{10, 12-14, 20, 21, 23, 24, 28, 29, 93-111}, Pb^{9-12, 15, 20, 21, 23, 32, 97, 103, 105, 109, 112-129} y Cd^{16, 21, 23, 97, 103, 109, 114, 118-121, 123, 130-132}, pero existe información limitada para Cu^{33, 124} y Zn^{33, 119-121, 123, 124} en comparación con los primeros. Aunque en la literatura se menciona que la metodología de la bioaccesibilidad ha sido usada en su mayoría para evaluar al As y al Pb, el método puede ser igualmente valioso para evaluar la absorción post-ingestión de otros EPT como Cd, Cu y Zn⁹⁴. Investigaciones sobre la bioaccesibilidad de EPT se han realizado en varias matrices contaminantes, la mayoría de estos estudios son en suelos contaminados por As de la industria minera^{20, 94}. Los resultados de las investigaciones sugieren que una variedad de parámetros, que incluyen la mineralogía de sitio y las propiedades del suelo, influyen la bioaccesibilidad de los EPT⁹³.

En el presente trabajo las extracciones para evaluar la bioaccesibilidad se realizaron en muestras que son previamente tamizadas para obtener partículas de tamaño menor que 250 µm. Estas son las partículas que se consideran pueden adherirse a las manos y podrían ingresar al sistema digestivo humano por actividades en las que se lleven las manos hacia la boca¹⁵. El detalle de los ensayos *in vitro* que se realizaron para evaluar la bioaccesibilidad de las muestras de Taxco y San Luis Potosí que se usaron en el presente trabajo, se encuentran en la Sección 3.2.3. A continuación se procederá a discutir estos resultados.

4.3.1.1. Fase gástrica

La solución de fase gástrica (FG) según el método descrito por Ruby *et al.* (1993)¹⁵, involucra la disolución de varios ácidos orgánicos y un ajuste de pH con ácido clorhídrico

(HCl) hasta un pH de 2. La relación muestra:solución que se usó fue de 1:100 y el tiempo de reacción fue de 1 h. Toda la metodología se basó en estudios realizados en conejos en los que se ha determinado que son el modelo animal apropiado de las condiciones del tracto gastrointestinal humano, especialmente de niños¹⁹. En la Tabla 4.3.1.1.1 se presentan los resultados de las concentraciones (mg kg⁻¹) de As, Cd, Cu, Pb y Zn que se disolvieron en el medio ácido estomacal simulado (pH = 2) de las muestras que se sometieron a esta extracción siguiendo el método descrito por Ruby *et al.* (1993)¹⁵ para la determinación de la bioaccesibilidad de EPT.

Tabla 4.3.1.1.1. Concentraciones bioaccesibles de los metales estudiados en fase gástrica. Los elementos se cuantificaron por ICP-AES. Entre paréntesis se muestran las desviaciones estándar de las mediciones

Muestra	As	Cd	Cu	Pb	Zn	Fe
mg soluble kg ⁻¹						
Taxco						
TJF – 01	39 (10)	39 (5.0)	< 5.3	351 (0.8)	1935 (27)	2171 (289)
TJF – 02	50 (11)	24 (0.5)	20 (6.6)	104 (22)	1639 (0.03)	4469 (944)
TJF – 03 ^a	54	31	29	150	1438	3904
TSF – 04	15 (0.04)	3.3 (0.01)	< 5.3	36 (1.1)	201 (9.4)	335 (12)
TSF – 05	27 (1.1)	2.7 (0.01)	< 5.3	32 (0.8)	150 (3.0)	271 (11)
TSF – 06	70 (11)	19 (0.1)	< 5.3	157 (27)	1552 (9.1)	1211 (107)
TSF – 07	112 (3.8)	17 (0.9)	14 (0.01)	256 (20)	1454 (55)	1134 (80)
TSF – 08	129 (19)	21 (0.9)	12 (5.6)	400 (83)	1568 (48)	877 (151)
TJF – 09	20 (2.0)	0.7 (0.34)	< 5.3	18 (1.0)	11 (0.002)	364 (40)
TSF – 10	41 (0.2)	1.7 (0.06)	< 5.3	57 (0.7)	66 (1.0)	604 (7.8)
San Luis Potosí						
SLP – 01	406 (25)	144 (9.5)	513 (30)	767 (47)	3124 (1017)	364 (18)
SLP – 02	1167 (350)	72 (16)	425 (87)	3060 (1194)	228 (43)	327 (121)
SLP – 03	2532 (26)	188 (3.7)	4614 (42)	9048 (82)	828 (12)	1377 (84)
SLP – 04	12656 (616)	273 (18)	869 (55)	3318 (377)	1465 (92)	590 (20)
SLP – 05	4799 (213)	944 (30)	7198 (220)	5563 (430)	2723 (1063)	1929 (113)
SLP – 06	19006 (750)	1679 (98)	8492 (280)	13553 (72)	30330 (15088)	6720 (253)
SLP – 07	7141 (430)	2592 (140)	11533 (694)	6558 (175)	10854 (461)	2817 (110)
SLP – 08	687 (12)	65 (1.4)	2226 (32)	2287 (62)	690 (1.9)	1591 (109)
SLP – 09	48893 (1428)	13868 (49)	1108 (16)	11059 (769)	17496 (31)	378 (30)

^a No muestra desvío estándar debido a que su segunda réplica no se cuantificó por estar en mal estado. Los valores que se observan junto a < corresponden al límite de detección del método para el elemento

De la Tabla 4.3.1.1.1 se puede observar que SLP presentó mayores concentraciones de los elementos de interés que se han disuelto en la solución de FG; con excepción del Zn. El

resto de elementos puede verse que el mayor de los valores de cada elemento en Taxco, ni siquiera se acerca al menor valor de los elementos correspondientes en SLP.

Las secuencias de los EPT encontradas en esta fase para Taxco fueron: $Zn > Pb > As > Cd \approx Cu$ en los suelos, $Zn > Pb > As \approx Cd > Cu$ en los jales de Taxco. Si se compara esta tendencia con la que se encontró para los totales, es apreciable que el Pb se disuelve más que el As en las condiciones ácidas de esta fase pese a que As tiene totales más altos. Este comportamiento también pudo verse para el Cd y el Cu, siendo este último el que más resiste a solubilizarse en la FG. La secuencia que siguieron los EPT en SLP para esta fase es la misma que para los semitotales de estos dos elementos. Lo anterior se debe principalmente al tipo de procesos generadores de residuos en ambas localidades. En SLP, los procesos metalúrgicos provocan la oxidación cuantitativa de los materiales procesados y, por tanto, los residuos acarrean a las especies en sus estados de oxidación más altos, siendo los más móviles de los EPT; mientras que en Taxco los residuos son exclusivamente mineros, en los que prevalecen los materiales reducidos y en diversas etapas de oxidación. Sin embargo, en suelos contaminados con residuos mineros (Taxco) se espera también una oxidación cuantitativa de los residuos, por lo que su menor nivel de bioaccesibilidad que los suelos de SLP debe explicarse por diferencias mineralógicas esenciales entre ambos. Para observar cómo variaron los resultados de los replicados de las muestras, se calculó el coeficiente de variación.

Un CV mayor que 20% puede indicar que las diferencias no se pueden atribuir solamente a la variabilidad del método y a la heterogeneidad de la muestra (errores aleatorios). Los resultados del cálculo de CV se presentan en la Tabla 4.3.1.1.2.

Tabla 4.3.1.1.2. Coeficientes de variación de los resultados obtenidos de las extracciones simulando la FG según el método de Ruby *et al.* (1993)¹⁵. Cada una de las muestras se trató por duplicado

Muestra	As	Cd	Cu	Pb	Zn	Fe
	CV (%)					
Taxco						
TJF - 01	25	13	^a	0.23	1.4	13
TJF - 02	23	1.9	33	21	0.0020	21
TSF - 04	0.23	0.27	^a	3.1	4.7	3.6
TSF - 05	4.2	0.54	^a	2.4	2.0	4.2
TSF - 06	16	0.52	^a	17	0.59	8.8
TSF - 07	3.4	5.3	0.11	8.0	3.8	7.0
TSF - 08	15	4.1	49	21	3.1	17
TJF - 09	10	49	^a	5.7	0.021	11
TSF - 10	0.45	3.6	^a	1.2	1.5	1.3

(continúa en la siguiente página)

Tabla 4.3.1.1.2. (continuación)

San Luis Potosí

SLP – 01	6.2	6.6	5.8	6.1	33	5.0
SLP – 02	30	22	21	39	19	37
SLP – 03	1.0	2.0	0.91	0.91	1.4	6.1
SLP – 04	4.9	6.6	6.3	11	6.3	3.3
SLP – 05	4.4	3.2	3.1	7.7	39	5.9
SLP – 06	3.9	5.8	3.3	0.53	50	3.8
SLP – 07	6.0	5.4	6.0	2.7	4.2	3.9
SLP – 08	1.8	2.2	1.5	2.7	0.27	6.8
SLP – 09	2.9	0.35	1.5	7.0	0.18	8.0

^a no se reportan datos porque sus resultados fueron menores que el límite de detección del equipo

Se deben tomar en cuenta todos los errores introducidos posibles desde la recolección inicial de la muestra y su manejo, hasta su manipulación en el laboratorio, cuantificación, pruebas y análisis (errores sistemáticos). En un estudio para As, las muestras con altos contenidos de Ca y pH mayor que 7, muestran pobre reproducibilidad en el análisis debido a su capacidad de amortiguar el pH¹⁰⁹. Esto sugiere que este tipo de muestras requieren de un control más estricto del pH en FG.

Es notorio que, a pesar de que no hay una correlación con el pH, las muestras de valores de pH extremos mostraron un comportamiento también extremo. En Taxco, la muestra con valor de pH de 3.3 (TJF-09) mostró los valores más bajos de bioaccesibilidad de los EPT estudiados. Esto se puede explicar porque al estar ya en un pH bastante ácido, la mayor parte de lo que pudiera ser removido por ácidos, ya lo ha sido y se ha lavado del jal, y una disminución a pH de 2 sólo remueve muy poco EPT adicional. En contraste en SLP, la muestra SLP-06 con mayor pH (10) mostró estar entre los valores más altos de bioaccesibilidad de EPT. Esto sugiere que una proporción considerable de los EPT deben encontrarse asociados a minerales carbonatados en esta muestra.

Comparando los valores encontrados de bioaccesibilidad en FG para As, Cd y Pb en Taxco con las concentraciones totales de referencia de la Norma Oficial Mexicana correspondiente (22 mg As kg⁻¹, 37 mg Cd kg⁻¹ y 400 mg Pb kg⁻¹)⁸⁸ y suponiendo que esas concentraciones totales fueran las bioaccesibles en su totalidad, se puede inferir que el único elemento que representa un riesgo para la salud humana en Taxco es el As en todas menos dos muestras. Tanto Cd como Pb ya se encuentran en concentraciones que cumplen con la norma. En contraste, en San Luis Potosí, las concentraciones mostraron elevados contenidos de EPT en esta fase que, en todos los casos, rebasan los valores de referencia anteriores.

Sin embargo, hay que recordar que, si bien en el estómago se ha demostrado que existe cierta absorción por un organismo vivo, la mayor parte de la absorción hacia el sistema circulatorio se produce en el intestino delgado. Por tanto, la determinación de la bioaccesibilidad en la FI proporcionará una información más real de lo que sucederá en el ser humano.

4.3.1.1.1. Correlaciones entre las concentraciones en la FG y los parámetros físicos y químicos de los suelos

Al relacionar los resultados en la FG con los parámetros físico-químicos del suelo de los sitios de estudio, no se encontraron correlaciones significativas y, por tanto, ningún parámetro predictivo sobre la concentración de EPT que podrían disolverse en la FG, pero sí pueden ayudar a complementar la comprensión de los fenómenos que probablemente ocurran. Esto ya ha sido demostrado en estudio previos¹¹².

En los suelos de Taxco, de los elementos mayores analizados en este estudio pudieron encontrarse fuertes correlaciones directas entre el Cd y Zn disueltos en FG con el Fe total ($r = 0.95$ y 0.94 , respectivamente); moderadas correlaciones positivas se encontraron entre Cd y Zn con el Mn ($r = 0.88$ y 0.86 respectivamente). Esto sugiere que el Cd y Zn pueden encontrarse asociados con minerales de óxidos de Fe y Mn y se disponibilizan, ya sea por disolución de estos óxidos en las condiciones gástricas y/o por desorción de los metales por competencia de los protones presentes que son solubles en el medio ácido en la etapa gástrica de extracción.

Los jales grises de Taxco tuvieron las siguientes correlaciones: La CE correlacionó perfectamente de manera indirecta con el Cd soluble en la FG. Con los demás parámetros fisicoquímicos no se reportaron correlaciones; de los elementos mayores. El Fe total se correlacionó de manera perfecta e indirecta con el As soluble en FG y con el Zn, pero directa y moderadamente ($r = 0.99$). Lo contrario se dio entre estos mismos elementos solubles en FG y CIT, siendo perfecta e indirecta para Zn y moderada positiva para As. La correlación entre As en FG y el CIT se puede explicar por formación de, ya sea precipitados de arseniatos de calcio debido que existe una correlación entre Ca total y CIT o, mejor aún la adsorción de As a carbonatos de Ca.

La principal correlación que se pudo encontrar en SLP se dio entre el Fe y S total con el Pb en FG (eliminando el mayor valor de Fe y el mayor valor de S, $r = 0.98$ y 0.96 , respectivamente), indicando la posible asociación de estos tres elementos en minerales como el existente en la plumbojarosita $[\text{PbFe}_6^{3+}(\text{SO}_4)_4(\text{OH})_{12}]$. En SLP hay que notar que, eliminando el valor mayor de bioaccesibilidad, el As está fuertemente correlacionado de modo lineal ($r = 0.85$) con el Ca total (pero no con Fe y COT). Esto sugiere que, por lo menos una proporción importante del As, se encuentra ya sea adsorbido sobre las superficies carbonatadas a través de mecanismos de intercambio de ligantes, quimiosorción, o precipitado como arseniatos de Ca en los suelos alcalinos²⁸. Se encontró también

correlación entre el Zn bioaccesible en la FG con el CIT ($r = 0.94$) y la CE ($r = 0.96$) sugiriendo, por un lado, que el Zn se encuentra como minerales carbonatados (e.g., $ZnCO_3$) (a pesar del pH inferior al neutro en la mayoría de muestras) y que la contaminación por Zn estuvo acompañada por contaminación por sales altamente solubles, pudiendo indicar que el incremento de la CE se debe en su mayoría a la disolución de los carbonatos de zinc [$ZnCO_3$].

En la Figura 6.2.3 del Anexo 6.2 se proporcionan los gráficos de las correlaciones que se pudieron encontrar.

4.3.1.1.2. Correlaciones entre los elementos bioaccesibles en la FG

Se realizaron también los análisis de las correlaciones entre los elementos bioaccesibles en esta fase, resultando en una correlación altamente significativa entre las concentraciones de As y Pb en los suelos de Taxco ($r = 0.97$). Esto podría ser por la disolución de los arseniatos de plomo en las condiciones ácidas de la FG. Así mismo, se encontraron correlaciones altamente significativas entre el Cd y el Zn ($r = 1$) debido a que estos tienen características químicas similares y, que dadas sus respectivas correlaciones con el Mn disuelto en esta fase ($r = 0.93$ y 0.92 , para Cd y Zn respectivamente), indicaron una asociación entre ellos ya sea como metales adsorbidos a las superficies de minerales de Mn amorfos o a minerales de Mn que involucran al Cd y al Zn en su estructura cristalina y que además son solubles al pH = 2 de la FG.

En los jales grises de Taxco se encontró que el Pb correlacionó indirectamente con el Fe ($r = -1$), el As y el Zn también correlacionaron de manera moderada y negativa ($r = -0.99$).

La más clara correlación que se presentó en SLP fue entre el Cu y Cd ($r = 0.93$). Una fuerte correlación se dio entre el Cu y el Fe ($r = 0.95$), y entre Cd y Zn ($r = 0.89$).

Los gráficos de las correlaciones que se presentaron en esta sección, es pueden observar en la Figura 6.2.6 del Anexo 6.2.

4.3.1.1.3. Correlaciones entre la bioaccesibilidad de los EPT en FG y sus concentraciones de en las partículas < 250 μ m

Se evaluaron las correlaciones de las concentraciones de los EPT de estudio que se presentan en las Tablas 4.2.1 y 4.3.1.1.1 que corresponden a las concentraciones totales en las partículas de muestra < 250 μ m y las bioaccesibles en FG, respectivamente.

De manera general se encontraron muy altas correlaciones lineales directas para todos los EPT de estudio, siendo el menor valor de estas correlaciones para el Pb ($r = 0.945$). Debido a los muy diferentes intervalos de concentraciones en ambos sitios de estudio, se procedió a evaluar las correlaciones de forma separada, en Taxco además, haciendo la distinción entre jales grises y suelos. Las gráficas de las correlaciones que se pudieron encontrar se observan en la Figura 4.3.1.1.3.1.

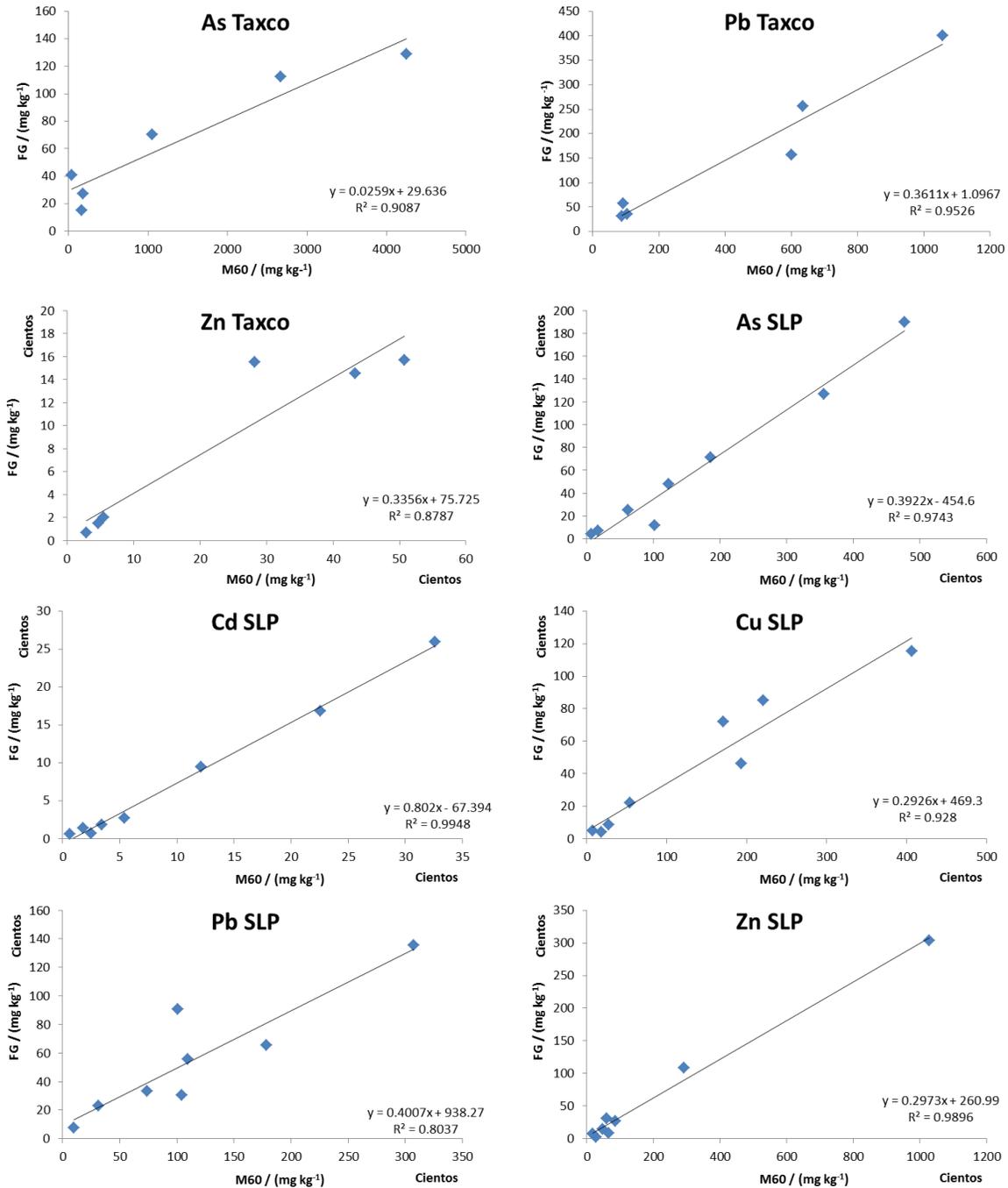


Figura 4.3.1.1.3.1. Correlaciones entre las concentraciones en la FG y totales en las partículas de muestra < 250 μ m para cada uno de los sitios de estudio

En los suelos de SLP, se encontraron fuertes correlaciones para todos los elementos, mostrando nuevamente el Pb la correlación más baja ($r = 0.896$). Los resultados para los suelos de Taxco, registraron fuertes correlaciones para As, Pb y Zn ($r = 0.953, 0.976$ y

0.937, respectivamente) para Cd y Cu, debido a que varias concentraciones tanto en FG como en las totales en < 250 μm fueron menores a los límites de detección, no se pudieron calcular sus correlaciones. En los jales, pese a que se registraron correlaciones para As y Pb (negativa y positiva, respectivamente), éstas no son claras pues corresponden a sólo 3 puntos. La Tabla 4.3.1.1.3.1 proporciona los parámetros de la regresión lineal entre las bioaccesibilidades en FG y las concentraciones totales en las partículas < 250.

Tabla 4.3.1.1.3.1. Parámetros de la rectas de regresión lineal entre las bioaccesibilidades en FG (eje de las ordenadas) y las concentraciones totales en las partículas < 250 (eje de las abscisas), también se proporciona las bioaccesibilidad relativas promedio (BA_{prom}) para cada sitio y elemento

	As	Cd	Cu ^a	Pb	Zn
Taxco J					
r	-0.990	0.910		0.995	0.897
m	-0.022	0.038		0.807	0.016
b	74	25		-186	1486
BA_{prom}	0.042	0.428		0.393	0.342
Taxco S					
r	0.953	0.158		0.976	0.937
m	0.026	0.026		0.361	0.336
b	30	18		1.10	76
BA_{prom}	0.230	0.445		0.393	0.353
SLP					
r	0.987	0.997	0.963	0.896	0.995
m	0.392	0.802	0.293	0.401	0.297
b	-455	-67	469	938	261
BA_{prom}	0.379	0.689	0.373	0.558	0.304

^aNo se proporcionan los valores debido a que la mayoría de ellos estuvieron bajo el límite de detección no pudiéndose tener valores de los parámetros de recta de regresión confiables

El hecho de encontrar estas correlaciones fuertes para todos EPT estudiados en SLP indica que los sistemas no están alcanzando las condiciones de equilibrio de disolución. En lugar de ello existe una dependencia de la cinética de disolución, es decir, que donde se encuentra más de un mismo mineral, éste se disuelve más en el tiempo de extracción en el que se realizó la evaluación (60 min) y esta disolución se realiza de manera proporcional al contenido total del elemento. Consecuencia de esto es que la división entre la bioaccesibilidad en FG y la concentración total en las partículas < 250 μm , resulten en valores similares para SLP y el promedio de éstas en un valor cercano al de la pendiente de la recta de regresión como se muestra en la Tabla 4.3.1.1.3.1. Una limitante a esto es que la

ordenada al origen de las rectas de regresión sea cercana a cero, pues mientras más alejada esté, mayor será también el alejamiento de la pendiente con el valor de la bioaccesibilidad relativa promedio (Tabla 4.3.1.1.3.1).

El mismo comportamiento observado en SLP se evidenció en los suelos de Taxco. Sin embargo, parece que lo mencionado en el párrafo anterior se verifica en donde se tiene un intervalo amplio de concentraciones, tanto en FG como en las concentraciones totales en las partículas < 250 μm . Esto se puede observar para el Pb y Zn que tienen un intervalo mayor de concentraciones en FG (32 – 400 y 66 – 1568 mg kg^{-1} , respectivamente) que la del As (15 – 129 mg kg^{-1}), viéndose éste último afectado por el valor de la ordenada al origen (b) debido a su bajo valor de pendiente (m). A pesar de ello la correlación es fuerte. Un comportamiento diferente se pudo observar para los jales grises, en donde las correlaciones que se registraron no fueron las esperadas ($r = -0.99$ para As) o no son confiables ($r = 0.995$ para Pb, por ubicar a dos de los tres puntos muy cercanos).

Esta falta de correlación en los jales grises (que se encuentran muy reducidos en comparación con los suelos) se debe a que la cinética de disolución no es proporcional al total, debido a la baja solubilidad de los minerales presentes en los jales reducidos.

De este modo puede ubicarse a las muestras estudiadas en dos grupos: i) el de las muestras oxidadas que se caracterizan por presentar linealidad entre las extracciones en FG y sus totales, y ii) las muestras reducidas que no presentan linealidad.

La razón de las altas correlaciones entre los suelos de SLP en comparación con los de Taxco, es que en SLP los residuos metalúrgicos que se han mezclado con los suelos, han sido sometidos a procesos de calcinación que produce una oxidación muy acelerada de los minerales que pudieron haber existido en esas muestras, mientras que el proceso que se da en Taxco es más lento ocurriendo la oxidación por el contacto solamente con el oxígeno del aire.

4.3.1.2. Fase intestinal

La característica principal de la fase intestinal (FI) del método de extracción *PBET* es el incremento del pH de la solución a un valor de 7 y la adición de una solución de sales biliares y pancreatina, con un tiempo de incubación de 4 h.

Debido a que la solubilidad de los EPT metálicos estudiados disminuye con el pH, lo que se esperaba era una disminución en la bioaccesibilidad de estos elementos. A pesar de que la FG promueve la disolución de los metales asociados a los minerales, está generalmente aceptado que la absorción del elemento se produce, en efecto, hasta el intestino delgado en un ambiente de pH neutro¹²⁵.

Los resultados analíticos de esta fase se presentan en la Tabla 4.3.1.2.1 en la que se proporcionan, además, las desviaciones estándar de las mediciones.

Tabla 4.3.1.2.1. Concentración bioaccesible de EPT estudiados en la fase intestinal. Los elementos se cuantificaron por *ICP-MS*. Entre paréntesis se muestran las desviaciones estándar de las mediciones

Muestra	As	Cd	Cu	Pb	Zn	Fe
$\text{mg}_{\text{soluble}} \text{kg}^{-1}$						
Taxco						
TJF – 01	21 (0.8)	1.2 (1.3)	14 (3.2)	9.0 (2.8)	108 (45)	1456 (155)
TJF – 02	17 (0.2)	0.46 (0.04)	15 (0.7)	1.2 (0.13)	44 (3.8)	1973 (372)
TJF – 03	25 (0.4)	0.39 (0.02)	31 (7.0)	6.4 (5.7)	381 (431)	1726 (83)
TSF – 04	5.0 (0.4)	0.44 (0.008)	6.0 (0.8)	2.5 (0.2)	3.4 (0.4)	210 (21)
TSF – 05	5.9 (0.2)	0.20 (0.002)	5.7 (1.0)	1.4 (0.17)	26 (32)	142 (4.1)
TSF – 06	29 (1.6)	0.88 (0.03)	22 (0.8)	2.7 (0.45)	540 (248)	662 (57)
TSF – 07	70 (19)	0.13 (0.07)	33 (17)	4.6 (0.9)	37 ^a	648 (192)
TSF – 08	65 (4.1)	0.73 (0.10)	26 (8.7)	13 (1.5)	97 ^a	538 (62)
TJF – 09	4.7 (1.3)	0.10 (0.08)	8.6 (3.6)	3.7 (4.6)	2.9 ^a	99 (74)
TSF – 10	2.6 (0.08)	0.023 (0.01)	17 (2.2)	0.26 (0.02)	64 (86)	166 (46)
San Luis Potosí						
SLP – 01	326 (24)	57 (7.1)	384 (19)	152 (47)	913 (110)	248 (4.1)
SLP – 02	1421 (339)	22 (3.0)	354 (46)	549 (190)	35 (3.7)	352 (59)
SLP – 03	2384 (46)	64 (6.2)	2774 (77)	3389 (69)	220 (11)	1012 (65)
SLP – 04	11781 (1261)	70 (12)	695 (50)	753 (138)	284 (4.9)	599 (47)
SLP – 05	3022 (86)	146 (99)	4600 (31)	269 (7.3)	690 (214)	649 (261)
SLP – 06	1617 (1.4)	0.27 (0.18)	3086 (28)	10 (6.1)	21 (2.6)	424 (295)
SLP – 07	1896 (26)	37 (50)	6800 (14)	72 (2.2)	862 (524)	460 (21)
SLP – 08	723 (44)	36 (6.8)	1753 (14)	926 (71)	277 (62)	1485 (94)
SLP – 09	96280 (13287)	97 (7.1)	368 (55)	111 (23)	688 (82)	37 (23)

^a No se muestran las desviaciones estándar debido a errores en la cuantificación de los replicados

Se observó, al acidificar las muestras filtradas después de la extracción para conservarlas hasta su análisis, la formación de un precipitado. Para identificar qué componente de la FI produce el precipitado, se prepararon tubos de ensayo que contenían: (i) la solución intestinal con bicarbonato, (ii) la solución intestinal sin bicarbonato, (iii) una solución acuosa de pancreatina y (iv) una solución acuosa de las sales biliares; a todas ellas les fue agregado HCl. Tanto en i como en ii se formó el precipitado por lo que pudo descartarse una interacción del bicarbonato en la formación del precipitado. La solución de pancreatina (iii) no mostró cambio alguno con el ácido agregado. Al final se identificó a las sales biliares como las responsables de este precipitado. Ruby *et al.* (1993)¹⁵ reportan que alrededor del 63% del Pb que analizó en su estudio fue removido por la formación de precipitado en el filtrado de la FI. Por esta razón las muestras de la FI no se acidificaron, más bien se analizaron lo más pronto que fue posible, puesto que se considera que la absorción cuantitativa del metal ocurre dentro del periodo de tiempo que dura la extracción

(aproximadamente 4 horas) y el tiempo adicional en contacto con sales biliares causa su posterior precipitación resulta entonces en un error experimental.

De manera similar a lo ocurrido en la FG, las concentraciones de los EPT en la FI para SLP resultaron ser más elevadas que las de Taxco. La muestra correspondiente al jal oxidado de Taxco tiene la más baja concentración de EPT si se compara con los jales grises. Hay una sola excepción y es que TJF-09 tiene mayor concentración de Pb que TJF-02. Sin embargo, al observar los valores de los suelos y jales de Taxco, no se pudo apreciar una diferencia clara entre ellas. Aunque el As en las muestras TSF-07 y 08 mostró concentraciones en esta fase mayores a las de los jales, confirmando una vez más que las altas concentraciones de estas muestras se deben a la contaminación por parte de los jales.

La secuencia que siguen los promedios de las concentraciones de EPT en Taxco es: $Zn > As \approx Cu > Pb \approx Cd$ para jales, siendo similar en los suelos pero con $As > Cu$, y en SLP $As > Cu > Pb > Zn > Cd$. Al comparar estas tendencias con las que se presentaron en la FG puede decirse que, en Taxco, el Pb disminuye su concentración en mayor extensión en comparación con los demás EPT con excepción del Cd. También se encontró que, en este mismo sector, el Cu se mantiene soluble con el cambio de las condiciones de FG a FI. Este comportamiento del Cu se podría atribuir a la facilidad que tiene para formar complejos con los ácidos orgánicos presentes, tanto en las soluciones gástricas, como intestinales.

En SLP, el As se mantuvo soluble con el cambio de condiciones, mientras que el Zn es el que precipita en mayor extensión. El Cu, con excepción del As, en este sector es el que menos disminuyó su concentración en relación con el resto de los elementos. Este comportamiento se debe a las mismas razones dadas para el Cu para los suelos de Taxco. Estos comportamientos de los EPT mencionados dan una idea de la compleja composición mineralógica presente en cada sector.

Se calcularon los coeficientes de variación para cada elemento y muestra. El criterio de porcentaje de error de 20% se usó para evaluar la variabilidad de las mediciones. Los resultados se muestran en la Tabla 4.3.1.2.2 para las extracciones de FI según el método usado por Ruby *et al.* (1993)¹⁵. Se puede observar que pese a que la mayoría de muestras pasan el criterio del 20% de error, existe un número mayor de muestras que no se ubican dentro de este intervalo. Con esto puede verse que este tratamiento no presenta variabilidad importante, mientras que las muestras con errores superiores al 20%, son atribuidas a errores sistemáticos. Muenier *et al.* (2011a)⁹⁵ encontró grandes coeficientes de variación entre los duplicados registrados para las partículas de mayor tamaño. Esto puede sugerir que el escoger tamaños de partícula grandes puede conducir a un incremento en la variabilidad en los resultados de bioaccesibilidad y además encontraron que los valores de coeficientes de correlación menores se dieron en muestras que tienen un diámetro de menos que 150 μm pero, a la vez, sugieren que este factor requiere de investigación adicional⁹⁵.

Tabla 4.3.1.2.2. Coeficientes de variación de los resultados de bioaccesibilidad en la FI según el método de Ruby *et al.* (1993)¹⁵. Cada una de las muestras se trató por duplicado

Muestra	As	Cd	Cu	Pb	Zn	Fe
	CV (%)					
Taxco						
TJF – 01	3.6	108	23	31	42	11
TJF – 02	1.1	7.8	4.4	11	8.6	19
TJF – 03	1.6	6.0	22	89	113	4.8
TSF – 04	7.0	1.8	14	6.1	12	10
TSF – 05	3.6	1.0	18	12	123	2.9
TSF – 06	5.4	3.0	3.8	17	46	8.6
TSF – 07	28	53	51	20	^a	30
TSF – 08	6.4	14	33	11	^a	11
TJF – 09	28	76	42	127	^a	75
TSF – 10	3.3	60	13	7.8	133	28
San Luis Potosí						
SLP – 01	7.4	13	4.9	31	12	1.6
SLP – 02	24	13	13	35	10	17
SLP – 03	1.9	10	2.8	2.0	5.0	6.4
SLP – 04	11	17	7.2	18	1.7	7.8
SLP – 05	2.9	68	0.67	2.7	31	40
SLP – 06	0.087	66	0.91	64	12	70
SLP – 07	1.4	136	0.20	3.0	61	4.6
SLP – 08	6.1	19	0.81	7.6	22	6.3
SLP – 09	14	7.3	15	21	12	62

^a No se muestran debido a errores en la cuantificación de las muestras

Por otro lado, el uso de filtros con un tamaño de poro considerablemente menor como los del presente estudio puede ser otra fuente de disminución de la variabilidad experimental, pues se retienen una gran proporción de los sólidos de hasta tamaños nanométricos que, con respecto a los demás estudios, donde en general el corte se hace en 0.45 μm y todas las nanopartículas pueden pasar el filtro.

En la FI, la absorción de los EPT ocurre a valores de pH cerca de la neutralidad. A este pH, las especies libres de los EPT, Cd^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} y Zn^{2+} , presentes a pH ácido de forma predominante, son transformados a especies menos solubles. Además, el pH neutro favorece la re-adsorción de los metales sobre las partículas de suelo u otros materiales presentes en la solución, disminuyendo la solubilidad y la absorción¹²⁰. Se sugiere que la concentración de EPT solubles en la FI depende de la disponibilidad de ligantes más que la

solubilidad del metal en la FG. La desmovilización de los EPT durante el tránsito de la FG a la FI resultaría en una redistribución de los EPT entre las diferentes fracciones del suelo, siendo re-adsorbido y/o precipitado¹²⁰.

Si se comparan los valores de bioaccesibilidad con los de la Norma Oficial Mexicana para los totales (22 mg As kg⁻¹, 37 mg Cd kg⁻¹, y 400 mg Pb kg⁻¹) y suponiendo que estos valores representan las concentraciones biodisponibles que son peligrosas, se ve que en Taxco el As continúa sobre el límite de la norma pese a que la concentración en esta fase se redujo en aproximadamente un 50%.

Otros estudios mencionan que cuando el medio ácido de la FG es neutralizado, el Pb se remueve considerablemente de la solución por reacciones de precipitación y adsorción, mientras que el As no²⁰. Para SLP se ve que, para estos tres elementos, sus concentraciones en esta fase continúan estando por encima de la norma.

4.3.1.2.1. Correlaciones entre las concentraciones bioaccesibles de EPT en la FI y los parámetros físicos y químicos de los suelos

En los suelos de Taxco y SLP no se registraron correlaciones con los análisis físico-químicos de los suelos. Esto concuerda con lo encontrado por Caboche *et al.* (2010)¹¹² en su estudio en el cual trató de modelar la bioaccesibilidad del Pb usando los resultados de los análisis rutinarios en suelos.

Con los elementos mayores se encontró que el Pb en la FI correlaciona directamente con el Mn total ($r = 0.99$) en los suelos de Taxco.

Para los jales grises de Taxco se encontraron correlaciones perfectas para el Cd con el S total ($r = 1$); sin embargo, éstas no son muy convincentes al graficarlas por lo que se considera que son necesarias más muestras para confirmar la correlación. Esto también aplica para la correlación del Ca total con Zn y Cu en la FI, y del Cd con el pH.

En resumen, Mingot *et al.* (2011)²⁸ en su estudio destaca la fuerte dependencia de la bioaccesibilidad del As con los tipos de suelo y las propiedades del suelo. También se ha encontrado evidencia de buenas correlaciones entre las fracciones bioaccesibles y parámetros como concentración de arcillas, carbonatos, MO y Fe total^{120, 121}. En este estudio se han analizado parámetros edáficos (pH, conductividad eléctrica, contenido de arcillas e intercambio catiónico) y contenido de elementos mayores (Ca, Fe, S, CIT y COT) para identificar cuáles de estos afectan a la bioaccesibilidad, sin embargo, no es aparente que estos parámetros sean robustos, es decir, que permitan la estimación de la bioaccesibilidad, independientemente de la fuente de contaminación, tipo de suelo o características mineralógicas (Figuras 6.2.3 y 6.2.4 del Anexo 6.2)¹¹².

No se pudo encontrar una conexión aparente entre la bioaccesibilidad en FG o FI con las características físicas y químicas de las muestras¹¹⁴. Sin embargo, las correlaciones que se

reportaron con los elementos mayores pueden explicar el comportamiento de los EPT, pero éstas fueron específicas para cada sitio impidiendo hacer una relación general de ellas.

4.3.1.2.2. Correlaciones entre los elementos solubles en la FI

Al realizar las correlaciones entre los resultados de las concentraciones de los EPT de estudio que se encuentran solubles en la FI, no fue posible encontrar correlaciones significativas claras entre ellos, tanto en los jales y suelos de Taxco, como en las muestras de SLP.

4.3.1.3. Fase gástrica vs Fase intestinal

Se compararon las concentraciones bioaccesibles de cada elemento en las FG (Tabla 4.3.1.1.1) y FI (Tabla 4.3.1.2.1). La Figura 4.3.1.3.1 ayuda a visualizar cómo se comportan cada una de éstas. De los cálculos estadísticos para Cd, Pb y Zn en cada una de las localidades, se pudo encontrar que la FG tiene concentraciones mayores de cada elemento si se compara con la FI. Esto se puede apreciar en la Figura 4.3.1.3.1.

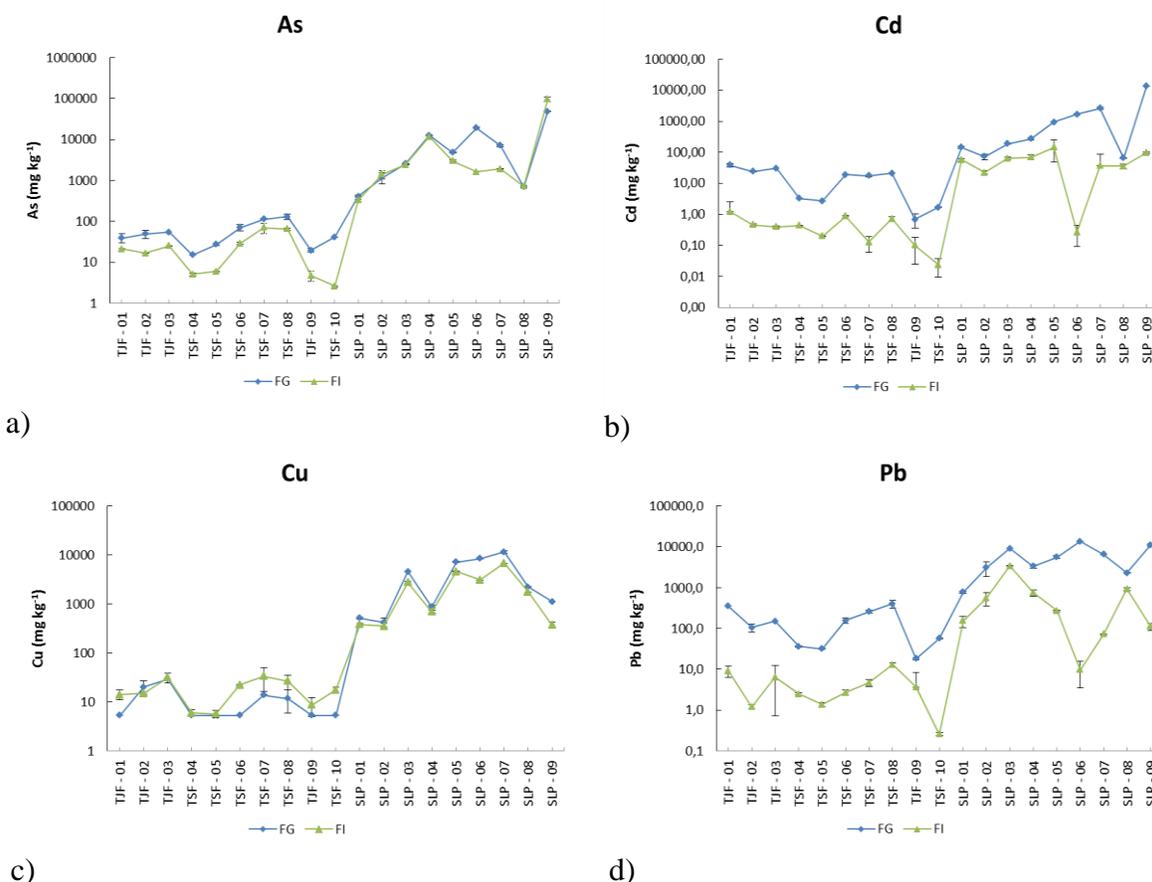
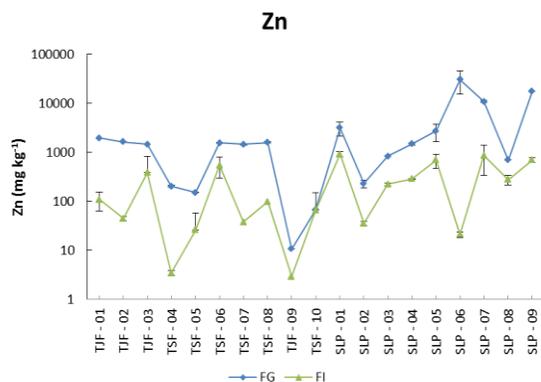
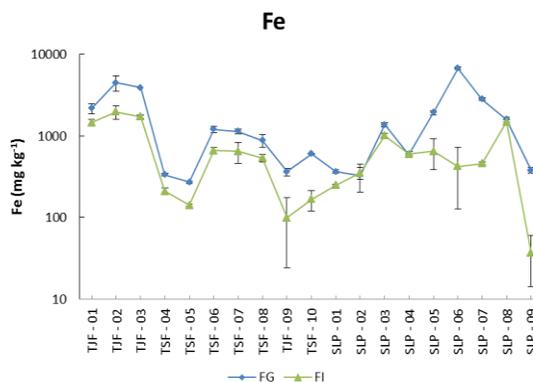


Figura 4.3.1.3.1. Comparación esquemática entre las bioaccesibilidades en la FG y la FI de los EPT de interés en el presente estudio. El eje de las ordenadas se presenta en escala logarítmica para apreciar mejor las concentraciones bajas. Se enlazaron los datos con líneas solamente como ayuda visual



e)

Figura 4.3.1.3.1. (continuación)



f)

En estudios realizados se ha encontrado que estos metales presentan su máxima solubilidad en la FG y que esta solubilidad decrece al pasar a la FI, la cual conlleva un incremento en el pH (de pH 2 en FG a pH 7 en FI)^{124, 127, 132, 133}. Los altos valores de bioaccesibilidad de Cd, Pb y Zn en la fase gástrica se debieron al bajo pH en esta fase, lo que facilita la disolución de estos elementos.

La disminución de la concentración al pasar de FG a FI se debe probablemente a reacciones de precipitación o sorción que ocurren con el incremento del pH^{15, 113, 132}. Los metales disueltos pueden ser sorbidos a los minerales de Fe amorfo por medio de complejación superficial o ser incorporados en los precipitados de Fe y que contribuyen a la reducción de la concentración de los metales disueltos en la FI^{16, 125, 132}.

Minerales de especies carbonatadas $[(CO_3)^{2-}]$ o sus óxidos metálicos son también solubles bajo condiciones ácidas y, por tanto, altamente bioaccesibles, mientras que minerales sulfurados (S^{2-}) son sobremente solubles en ambientes con bajos valores de pH (bioaccesibilidad baja)²⁰.

Las muestras presentarán comportamientos diferentes dependiendo de los minerales que estén presentes en el sistema, incluso teniendo incremento de la concentración de la FI que en la FG. Esta excepción en las muestras de este trabajo se puede evidenciar en Taxco para Cu donde existen muestras que presentan el fenómeno de incremento de la concentración en la FI. Este comportamiento puede atribuirse a la mezcla compleja de formas minerales de Cu. Las concentraciones de Cu se incrementaron al pasar de la FG a la FI pero este incremento no fue significativo¹²⁴.

Meunier *et al.* (2011c)¹⁰⁰ muestra que, dependiendo de la composición mineralógica del sector, los elementos no logran alcanzar el equilibrio en la FG, ya que al extender el tiempo de reacción de esta fase encontraron incrementos y decrementos de las concentraciones del

metal estudiado al comparar los resultados luego de una hora de tiempo de reacción que sugiere el método.

Tomando lo descrito por Ruby *et al.* (1993)¹⁵ en este trabajo, en la FI los elementos se pueden encontrar presentes en cuatro formas: i) solubilizados ya sea como iones o formando complejos con ligantes orgánicos; ii) solubilizados, unidos a especies de alta masa molecular (proteínas, enzimas, MO, etc.); iii) como elementos que fueron solubilizados en la FG pero que fueron sorbidos sobre las superficies de sólidos o que precipitan ellos mismos en la FI; y iv) los elementos que se mantuvieron insolubles en la FG.

Las especies de los elementos pueden permanecer solubles si las respectivas constantes de solubilidad de los minerales de las especies no han sido excedidas o si los elementos forman complejos solubles con ligantes orgánicos o inorgánicos¹³³. Se ha sugerido que los ácidos orgánicos y las enzimas en el tracto gastrointestinal en medio neutro de la FI pueden enlazar o inhibir la formación de precipitados de Pb¹⁵.

Se encontró que las sales biliares (al precipitar de la solución intestinal) fueron las responsables del decremento de aproximadamente el 63% concentración de Pb al acidificar la muestra previo al análisis. Con esto, puede sospecharse que la mayor cantidad de Pb que se encuentra disuelto en la FI está asociado a compuestos orgánicos de alta masa molecular, como se indica en el punto ii.

La disolución de los oxihidróxidos de Fe con la disminución del pH ha sido extensamente reportada y su grado depende de la naturaleza cristalina de estos oxihidróxidos y del tamaño de partícula. Estudios realizados con Pb mencionan que la disolución del Pb en FG está asociada con la solubilización del Fe y que incrementando el tiempo de contacto en FG generalmente resulta en el incremento de la concentración tanto de Pb como de Fe en la fase¹²⁵.

Los factores que controlan la solubilidad de los metales en la FI son complejos, pero el pH de esta fase (pH = 7) tiene una fuerte influencia en el comportamiento de los metales. Smith *et al.* (2011a)¹²⁵ determinan por análisis de XANES que los metales de la FI mostraron una fuerte asociación con los oxihidróxidos de Fe y con las arcillas presentes en todos sus suelos investigados. La asociación del metal con el Fe observada en el análisis espectroscópico está apoyada en el análisis de la solución extraída de la FI en la que se observa que la concentración del metal decrece al modificar las condiciones, de la FG a la FI y que está acompañada por la correspondiente disminución de la concentración de Fe soluble.

La marcada asociación de los metales con oxihidróxidos de Fe en la FI es de interés en las muestras SLP-02 y SLP-05 que tienen concentraciones totales de As y Pb similares en la

fracción de partículas < 250 μm (Tabla 4.3.1.3.1) y, sin embargo, muy diferente bioaccesibilidad.

Tabla 4.3.1.3.1. Concentraciones promedio de As, Pb y Fe totales en las partículas < 250 μm , en FG y en FI de las muestras SLP-02 y SLP-05. Entre paréntesis se muestran las desviaciones estándar del valor promedio

Muestra	As	Pb	Fe
	mg kg ⁻¹		
Total 250 μm			
SLP - 02	10124 (405)	10411 (199)	40075 (1072)
SLP - 05	12227 (267)	10939 (253)	52823 (1025)
Fase Gástrica, FG			
SLP - 02	1167 (350)	3060 (1194)	327 (121)
SLP - 05	4799 (213)	5563 (430)	1929 (113)
Fase Intestinal, FI			
SLP - 02	1421 (339)	549 (190)	352 (59)
SLP - 05	3022 (86)	269 (7.3)	649 (261)

Puede verse que en SLP-02 las concentraciones de As en la FG y la FI presentaron valores similares, mientras que para As en SLP-05 y para Pb en las dos muestras, las concentraciones en la FG fueron mayores que en la FI. La diferencia de la bioaccesibilidad en estos suelos puede ser debido a la alta concentración de Fe soluble en la FG, pese a tener concentraciones totales de Fe también similares.

Los cambios en la concentración de Fe al seguir la modificación de las condiciones de la FG a FI ocurrieron como resultado de la precipitación de estructuras amorfas de Fe debido a la sobresaturación de las especies de Fe hidrolizadas resultantes del incremento del pH de la solución¹³⁴.

La correspondiente disminución de los metales solubles en la FI comparándola con la FG es resultado de la precipitación por el incremento del pH de la solución, co-precipitación con minerales amorfos de Fe o la re-adsorción sobre éstos y otros minerales (e.g., arcillas) de la matriz del suelo^{32, 135}.

La Figura 4.3.1.3.2 presenta una mejor visión de estos cambios en las muestras seleccionadas.

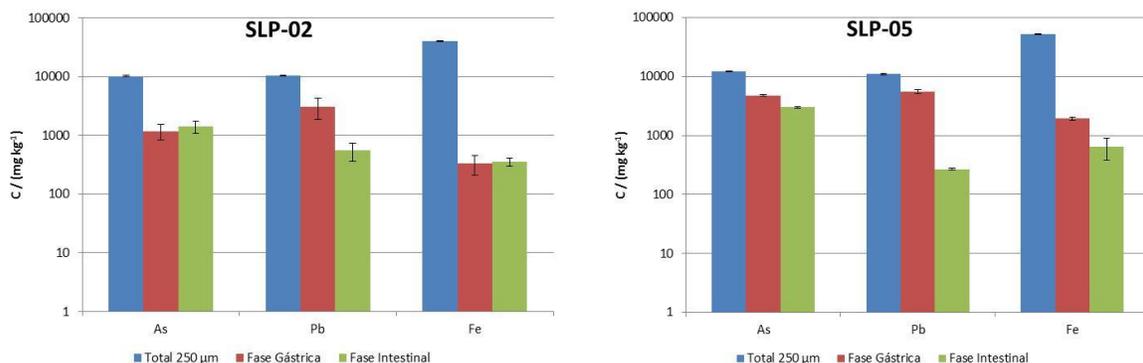


Figura 4.3.1.3.2. Gráfico de las concentraciones promedio de As, Pb y Fe totales en las partículas < 250 μm, en la fase gástrica (FG) y en la fase intestinal (FI) de las muestras SLP-02 y SLP-05

En la Figura 4.3.1.3.1 a), puede observarse un comportamiento diferente del As por localidad. En Taxco es evidente que las concentraciones encontradas en la FG son más altas que las concentraciones en la FI. Sin embargo, una tendencia diferente es la que puede evidenciarse para SLP, en la que las concentraciones en cada fase muestran ser estadísticamente iguales en varias muestras (SLP-01 a 04 y SLP-08); en otra, las concentraciones en la FI son mayores que en la FG (SLP-09) y en unas pocas se muestra la tendencia que ya se ha observado de mayor concentración en la FG que en la FI (SLP-05 a 07).

La bibliografía menciona que es probable que los jales contengan mezclas de varios minerales de As, incluyendo arsenopirita geogénica y una mezcla compleja de minerales secundarios de As (predominantemente en forma de As^{5+}) resultado de las actividades antropogénicas con subsecuentes procesos de intemperismo y oxidación¹⁰¹. Los sulfuros de As (como la arsenopirita $FeAsS$) están entre las formas menos bioaccesibles de As del suelo, pero también menos estables a largo plazo en presencia de oxígeno.

Meunier *et al.* (2011c)¹⁰⁰ en su estudio realizado para As concluyeron que en las muestras que fueron probadas emergen tres comportamientos cinéticos diferentes [Figura 4.3.1.3.3 b)]: rápida disolución en la FG, seguida por la estabilización en la FI (similar a la arsenopirita [$FeAsS$]); lenta disolución en la FG, seguida de un incremento en la fase intestinal (similar a la escorodita [$FeAsO_4 \cdot 2H_2O$]) y elevadas concentraciones bioaccesibles en la FG, seguida por adsorción y/o co-precipitación del As tendiendo hacia estados estables de concentración del metal bioaccesible en la FI (siguiendo el patrón de disolución de la yukonita [$Ca_2Fe(AsO_4)_3(OH)_4 \cdot 4H_2O$])¹⁰⁰. En la Figura 4.3.1.3.3 a) se puede apreciar el comportamiento cinético en suelos de distintos sectores que estudio Meunier *et al.* (2011c)¹⁰⁰, las concentraciones de As en estos sitios correspondieron a valores de fondo.

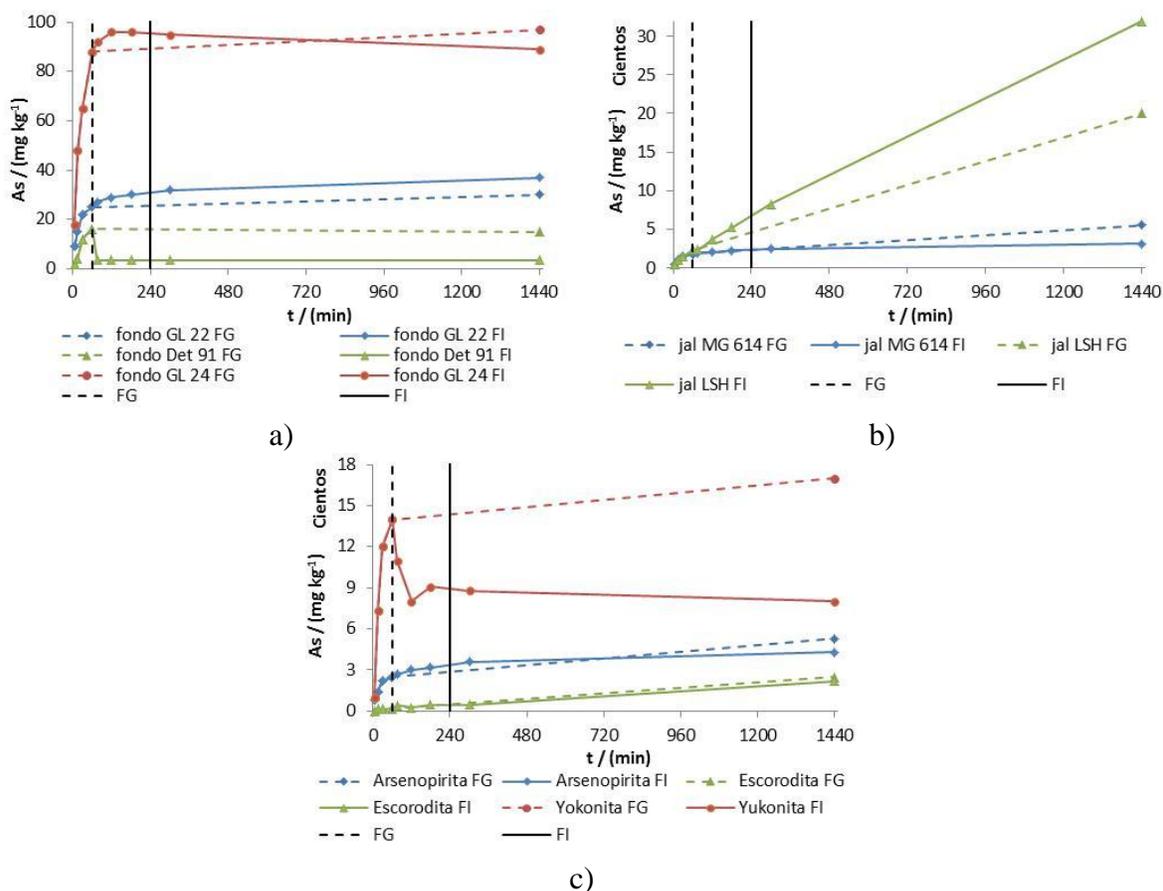


Figura 4.3.1.3.3. Concentraciones de As bioaccesible en la FG seguida de las condiciones intestinales con tiempo extendido a 1440 min (24 h) (líneas continuas) y en condiciones de la FG por 1440 min (líneas punteadas). Cada una de las gráficas corresponden a: a) suelos que se usaron para determinar concentraciones de fondo; b) jales; y c) tres diferentes tipos de minerales. Tomado de Meunier et al (2011c)¹⁰⁰

Hay que recalcar que las muestras GL 22 y GL 24 corresponden al mismo sitio pero en diferente punto y sus cinéticas se comportan diferentes; GL 22 es similar a la arsenopirita y GL 24 a la yukonita. Esto es un claro indicativo de como las especies mineralógicas presentes en un sitio específico puede afectar en la bioaccesibilidad. Cabe aclarar que la mineralogía esperada de As en suelos naturales se infiere que pueda ser muy diferente a la de suelos contaminados con concentraciones considerablemente mayores. Las muestras de jales [Figura 4.3.1.3.3 b)] que estudiaron Meunier *et al.* (2011c)¹⁰⁰ tienen comportamientos similares a la arsenopirita (MG 614), mientras que el jal LSH se comporta como la escorodita. Sin embargo, los autores mencionan que cada patrón de comportamiento similar no puede ser construido como indicativo de la presencia de una forma mineral de As, debido a que la bioaccesibilidad porcentual que calculó a partir de sus datos tuvo un muy amplio rango en las muestras de cada grupo. En cambio, esto sugiere que los efectos

combinados de la presencia de una mezcla compleja de formas minerales de As que resultan en patrones de disolución que se parecen a los de minerales de As conocidos.

A la Figura 4.3.1.3.3 se le han añadido rectas perpendiculares que indican los tiempos en los que se toma la muestra para cuantificar el elemento en la FG (60 min; líneas punteadas) y en la FI (240 min; líneas continuas). Con éstas se puede observar que al cuantificar cada una de las fases se podrían tener tres comportamientos al compararlas: i) que la concentración en la FG sea mayor que la concentración en la FI (Det 91); ii) que la concentración en la FG se manifieste menor que en la FI (jal LSH y GL 22) o iii) que las concentraciones tanto en la FG como en la FI se presenten similares (MG 614 y GL 24). El hecho de que las muestras en este estudio presenten estos tres comportamientos ayuda a tener una visión de su complejidad no solamente al compararlas por localidad, sino también entre cada punto del que se tomaron las muestras.

Wang y Mulligan (2009)¹⁰⁸ observaron la interacción entre los ácidos húmicos y los cationes metálicos, citando que ésta resulta de la formación de especies de humatos de metal solubles en lugar de la precipitación de hidróxidos metálicos a pH mayor a 8 que, además, evita la re-precipitación del As por adsorción y/o co-precipitación con los hidróxidos. Encontraron también que la solubilidad de los complejos metal-AH se incrementa a valores de pH altos. El As puede ser enlazado a los complejos a través de mecanismos de puentes metálicos o formando complejos acuosos directamente con el ácido húmico, que puede incrementar la movilidad de los elementos en los jales mineros¹⁰⁸. Estos mismos procesos pueden estar sucediendo con los metales en estudio y los ácidos orgánicos presentes en la FG; Ruby et al (1993)¹⁵ incluso encontraron las constantes de formación de los complejos de los ácidos orgánicos de la FG y determinaron que los complejos con ácido cítrico ($K_{ML} = 4.1$) tienen mayor estabilidad en comparación con los demás ácidos que mostraron constantes de formación similares (K_{ML} en el intervalo de 2.0 a 2.6). La presencia de Ca es un posible indicador asociado con la formación de más arseniatos solubles. También ha sido demostrado que la presencia de óxidos de Fe disminuyen la bioaccesibilidad del As¹¹¹.

En resumen, la absorción en el tracto gastrointestinal de EPT es un proceso dinámico y complejo que involucra procesos de disolución, sorción, absorción e interacciones con otro tipo de componentes en la dieta. La disolución de todos los elementos de estudio se debió a que los compuestos de carbonatos, sulfatos y en menor extensión sulfuros incrementan su solubilidad en condiciones ácidas. Se ha encontrado que, para los elementos Cd, Pb y Zn, su solubilidad disminuye al cambiar las condiciones de extracción, de pH ácido en la FG a pH neutro en la FI. Esta disminución de la bioaccesibilidad en la FI se debe a que ocurren procesos de sorción al incrementarse el pH (adsorción, co-precipitación), y/o de precipitación. En estos procesos de sorción en las condiciones intestinales, son importantes los óxidos de Fe y Mn de bajo punto de carga cero (*PZC*), sobre cuyas superficies negativamente cargadas por el incremento del pH, se adsorberán los elementos

mencionados. La formación de carbonatos del metal también ayudó a la disminución de la solubilidad del Cd, Pb y Zn. El hecho de que se encontraron EPT solubles en la FI se debió a la formación de complejos con los ácidos orgánicos presentes en la FG, las sales biliares en FI y la MOS también puede colaborar con la permanencia en solución de los EPT^{10, 136}. Para ambas fases, los sistemas de extracción no llegan al equilibrio cinético en los tiempos respectivos de toma de muestra para el análisis, por lo que este puede ser factor importante al explicar la variabilidad de los resultados.

4.3.2. Bioaccesibilidad y biodisponibilidad

Estudios realizados determinan que la movilización de Pb en la FG proporciona una buena predicción de la biodisponibilidad determinada usando cerdos jóvenes²⁰. En contraste, se obtuvieron correlaciones pobres *in vivo-in vitro* para la FI y los datos de biodisponibilidad relativa del Pb, lo que se atribuye al sistema complejo no equilibrado para el Pb en la FI y sus niveles considerablemente más bajos que imponen un reto analítico en una matriz acuosa compleja^{20, 133}. Se sugiere, por tanto, que el uso de los datos de la FG son preferibles como una medida de la bioaccesibilidad²⁰. Aunque Juhasz *et al.* (2009a)²⁷ encontró una pobre correlación entre la biodisponibilidad en cerdos y la extracción simulando la FG.

En las investigaciones que se han realizado para encontrar una relación entre los valores de la bioaccesibilidad y la biodisponibilidad para As, Cd y Pb, se han reportado ecuaciones que relacionan el porcentaje de bioaccesibilidad en la FG con la biodisponibilidad relativa. Las ecuaciones resultantes son el producto de análisis de biodisponibilidad en cerdos (As)⁹⁸, ratones (Cd)¹⁶ y ratas (Pb)²⁰. Las ecuaciones que se han reportado se presentan en la Tabla 4.3.2.1. Los cálculos de las biodisponibilidades con el uso de estas ecuaciones son las que podrían usarse para la determinación del riesgo a la salud humana, debido a que las especies usadas para la determinación de la bioaccesibilidad tienen semejanza con el tracto gastrointestinal humano, niños especialmente.

Tabla 4.3.2.1. Ecuaciones presentadas en la bibliografía que relacionan a la biodisponibilidad *in vivo* y la bioaccesibilidad *in vitro*

Elemento	Ecuación de la recta	r	Espécimen	Referencia
As	%BD = 1.162 %BAG + 10.096	0.799	cerdos	Juhasz <i>et al.</i> (2011a) ⁹⁸
Cd	%BD = 0.778 %BAG - 14.756	0.865	ratones	Juhasz <i>et al.</i> (2010) ¹⁶
Pb	%BD = 1.4 %BAG + 3.2	0.93	ratas	Ruby <i>et al.</i> (1993) ¹⁵

%BD biodisponibilidad relativa; %BAG bioaccesibilidad relativa; r coeficiente de correlación

El uso de las ecuaciones de la Tabla 4.3.2.1, necesitan del cálculo de las bioaccesibilidades porcentuales en la FG, según la ecuación 4.7.8. La Tabla 4.3.2.2 proporciona los valores encontrados de la biodisponibilidad de As, Cd y Pb calculados con las ecuaciones de la Tabla 4.3.2.1. Adicionalmente, se presentan los valores de la bioaccesibilidad porcentual en

la FI debido a que estos valores serán los más parecidos en magnitud a aquellos de biodisponibilidad (aunque sus correlaciones con la biodisponibilidad sean, en general, pobres).

Tabla 4.3.2.2. Bioaccesibilidad intestinal porcentual (%BAI) y biodisponibilidad relativa (%BD) calculada para los elementos As, Cd y Pb

Muestra	%BAI			%BD		
	As	Cd	Pb	As ^a	Cd ^b	Pb ^c
Taxco						
TJF – 01	1.3	0.35	1.4	13	-6.1	77
TJF – 02	1.5	1.2	0.32	15	33	42
TJF – 03	2.6	0.72	1.6	17	29	56
TSF – 04	3.1	14	2.3	21	66	51
TSF – 05	3.2	6.2	1.5	27	51	53
TSF – 06	2.8	2.8	0.45	18	32	40
TSF – 07	2.6	0.25	0.73	15	12	60
TSF – 08	1.5	1.3	1.2	14	16	56
TJF – 09	0.29	3.2	0.27	12	2.2	5
TSF – 10	6.3	0.73	0.28	127	27	89
San Luis Potosí						
SLP – 01	46	32	15	77	49	112
SLP – 02	14	9	5.3	23	7.9	44
SLP – 03	39	19	34	58	28	129
SLP – 04	33	13	10	51	24	66
SLP – 05	25	12	2.5	56	46	74
SLP – 06	3.4	0.012	0.031	56	43	65
SLP – 07	10	1.1	0.4	55	47	55
SLP – 08	42	57	30	57	66	105
SLP – 09	15	0.27	0.051	19	16	10

Las biodisponibilidades relativas *in vivo* fueron evaluadas en ^acerdos, ^bratones y ^cratas

La diferencia más influyente que se debe considerar al usar estas ecuaciones de la Tabla 4.3.2.1 es que en los estudios que cada uno de los investigadores realizó, en el método de filtración emplearon membranas de tamaño de poro 0.45 μm , que es de mayor tamaño que las que se usaron en este estudio (0.05 μm).

Una consecuencia de esto es, como se menciona en la sección de filtración (Sección 4.3.3), que las concentraciones medidas en la FG con un filtro de mayor tamaño, son más grandes que si se usan filtros de porosidad menor presumiblemente debido a que se están cuantificando también nanopartículas y coloides menores a 450 nm, por lo que al usar estas

ecuaciones se calculan biodisponibilidades relativas menores a las encontradas experimentalmente.

De la Tabla 4.3.2.2 se puede ver que los porcentajes de biodisponibilidad se mostraron mucho más elevados que los porcentajes de bioaccesibilidad en la FI para los tres elementos evaluados; esto concuerda con estudios previos para As y Pb^{20, 98}.

La concentración elevada del Cd no concuerda con lo encontrado por Juhasz *et al.* (2010)¹⁶, quienes reportan que el porcentaje de Cd biodisponible es más bajo que la bioaccesibilidad relativa en la FI.

Debe mencionarse que, debido al tamaño de poro que se usó para la filtración de los extractos en el presente estudio (0.05 µm), las concentraciones en la FG serán menores que las realizadas con filtros de tamaño de poro mayor (0.45 µm) utilizados para calcular esas ecuaciones. Al usar estas concentraciones en la FG (%BAG) se obtendrán valores de %BD menores a las reales usadas por los autores en la elaboración de sus ecuaciones. Por lo tanto, los valores de %BD que se esperan en la realidad para todos los EPT estudiados deben ser aún mayores que los calculados en la Tabla 4.3.2.2.

El uso de los valores reportados para la biodisponibilidad en la evaluación de la toxicidad debe ser muy cuidadoso debido a las condiciones en las que se realizaron los estudios previos y se podría sugerir la realización de evaluaciones de la biodisponibilidad *in vivo* para las muestras de los dos sectores de estudio y de esta manera hacer un estudio más real del comportamiento de los resultados de bioaccesibilidad *in vitro*.

Sin entrar en mucho detalle, cabe destacar que las evaluaciones *in vivo* de la biodisponibilidad relativa se realizaron usando, además de distintas especies, diferentes métodos de cálculo; así, métodos fármaco-cinéticos en los que a la concentración en la sangre del elemento que ha sido absorbido del suelo se le relaciona con la cantidad del mismo elemento en la sangre pero absorbido por el espécimen a partir de un material de referencia, el acetato de Pb en el caso de Pb¹³³ y arseniato de sodio para As¹³⁷; o directamente medido de los órganos de la especie, en el que la ecuación para Cd fue establecida de la suma de las concentraciones de Cd encontradas en los riñones e hígado de la especie en la que se realizó el estudio¹⁶.

Finalmente, el uso de bioaccesibilidades relativas (al total del elemento presente) es potencialmente engañoso. Por ejemplo, si la movilización de un elemento depende de la solubilidad de un mineral específico en que se encuentre, es erróneo determinar la bioaccesibilidad relativa pues ésta no depende de la cantidad total presente. Es decir, la solubilidad de un mineral no depende de su cantidad total presente, sino simplemente de la relación sólido-líquido utilizado, y dos situaciones de un mismo mineral en diferentes cantidades totales, darán la misma solubilidad (bioaccesibilidad) absoluta, pero diferente bioaccesibilidad relativa.

4.3.3. Filtración

Los métodos usados para la separación de la fase líquida de la sólida en la determinación de la bioaccesibilidad de EPT son variados. Éstos van desde la centrifugación, hasta la ultrafiltración como la técnica más sofisticada. Ruby *et al.* (1993)¹⁵ mencionan la posibilidad de que los complejos formados entre los ácidos orgánicos y los metales sean absorbidos por las paredes intestinales haciendo que la bioaccesibilidad del metal disminuya en la FI, este fenómeno fue observado al encontrar la disminución de la concentración del citrato de Pb al pasar de la FG a la FI en los conejos usados para el estudio.

Este fenómeno de complejación de los EPT por las sustancias orgánicas también se pone en evidencia por la disminución de la concentración de Pb que se observó al acidificar las muestras de la extracción en la FG y la posterior precipitación de las sales biliares que se encuentran en esta fase. Por ello, los compuestos orgánicos de baja masa molecular que forman complejos con los EPT pueden ser absorbidos por las paredes intestinales, mientras que los complejos orgánicos de alta masa molecular, pese a estar solubilizados en el medio no pueden atravesar las paredes intestinales, creando así un modo de discriminación de las moléculas más grandes.

Para reflejar esto, es insuficiente la micro-filtración usando membranas con tamaño de poro de 0.45 μm como se realiza en la mayoría de los estudios consultados, por lo que si se usan membranas de tamaño de poro mucho más pequeño (0.05 μm), se está en el intervalo de la ultrafiltración (0.001 a 0.1 μm , equivalente a masas moleculares entre 0.2 y 20000 kDa), en la que se podrían separar a las proteínas con masas moleculares mucho menores al límite superior mencionado para este tipo de membranas¹³⁸. La Tabla 4.3.3.1 proporciona valores encontrados de bioaccesibilidad determinada por diferentes métodos.

Tabla 4.3.3.1. Diferencias en la bioaccesibilidad relativa del Pb de la fase intestinal en una misma muestra dependiendo del método de separación empleado¹²⁸

Método de separación	Pb %BAI
Centrifugación ^a (3000 x g)	32
Microfiltración ^b (0.45 μm)	22
Ultrafiltración ^c (5kDa)	3.5
Biodisponibilidad <i>in vivo</i> ^d	2.5

Los métodos para bioaccesibilidad fueron: ^a*RIVM* (Holanda), ^b*PBET* (Gran Bretaña), y ^c*TIM* (Holanda)

^dEl dato de biodisponibilidad proviene de un estudio realizado en humanos voluntarios²²

Van de Wiele *et al.* (2007)¹²⁸ encuentran que la bioaccesibilidad está altamente influenciada por el método de separación empleado (filtración en este estudio). En la Tabla 4.3.3.1 es notorio que el método por ultrafiltración es el que más se aproxima al valor de biodisponibilidad de Pb que se usó en el estudio realizado por Van de Wiele *et al.* (2007)¹²⁸. Sin embargo, se debe mencionar que en este estudio el autor comparó tres métodos diferentes para evaluar la bioaccesibilidad en la FI además de que cada método usa un sistema de separación diferente, correspondiendo para el método *PBET* la microfiltración (membranas de 0.45 μm). Por lo tanto, se sugiere un estudio de cómo varían los resultados de las bioaccesibilidades absolutas en la FG y la FI utilizando el mismo método de bioaccesibilidad y membranas de filtración con tamaños de poro diferentes.

4.4. Extracciones simples

El escoger la solución de HCl parece evidente para tratar de simular la extracción en la FG. En cambio, la solución de NH_4OAc se seleccionó porque al estar a pH 7, evitará la disolución de los carbonatos; esta solución se usa en la determinación de la CIC, debido a que el $(\text{NH}_4)^+$ puede desplazar cationes metálicos de los complejos superficiales de esfera externa, así como también a los cationes metálicos fácilmente intercambiables. Además el anión acetato (OAc^-) puede formar complejos con los cationes y de esta manera ayudar a su desorción.

Los resultados y la discusión de las extracciones simples realizadas en las muestras de Taxco y SLP se presentan a continuación.

4.4.1. Ácido clorhídrico

El método de extracción usado en este estudio se ha descrito en la Sección 3.2.4 y es una variación al método de extracción secuencial descrito por Sparks (1996) [Anexo 6.1]⁸⁵. En el estudio realizado por Yang *et al.* (2009)³⁰ sobre el comportamiento de la extracción con HCl, demostraron que con la concentración de As, Pb y Zn extraída y normalizada por masa del suelo, con una relación suelo:solución superior a 1:5 y una concentración de solución de HCl de 0.5 mol L^{-1} , se obtienen resultados estadísticamente iguales, independientemente de la relación suelo:solución³⁰.

La Tabla 4.4.1.1 proporciona la relación muestra de suelo:solución de HCl 0.1 mol L^{-1} que es la necesaria para obtener una mezcla con un pH entre 1.8 y 2.2 por un tiempo de 90 min. Esta caracterización es muy importante debido a que en la extracción simulando la FG del método *PBET*, se realiza un control riguroso del pH de la FG que debe también permanecer en el intervalo de tiempo mencionado. Si se considera la muestra en la que se obtuvo mayor relación suelo:solución (Tabla 4.4.1.1), el cálculo dice que se necesita un volumen de 12 mL de HCl 0.5 mol L^{-1} para conseguir el pH que se manejó en este estudio, haciendo ver que la relación 1:5 usada por Yang *et al.* (2009)³⁰ en su estudio no es suficiente para llegar a pH = 2. Los valores de relación suelo:solución de la Tabla 4.4.1.1 se sugiere que están

relacionados con el pH y CIT. La Figura 4.4.1.1 muestra el comportamiento lineal entre estos dos parámetros y se presenta el coeficiente de correlación junto con la ecuación asociada a esta recta de regresión.

Tabla 4.4.1.1. Relación masa (g) de muestra:volumen (mL) de solución de HCl 0.1 mol L⁻¹, para obtener una solución de pH = 2 con un tiempo de agitación de 90 min

Muestra	Relación	Muestra	Relación
Taxco		San Luis Potosí	
TJF - 01	1:30	SLP - 01	1:10
TJF - 02	1:50	SLP - 02	1:10
TJF - 03	1:60	SLP - 03	1:10
TSF - 04	1:20	SLP - 04	1:10
TSF - 05	1:20	SLP - 05	1:10
TSF - 06	1:20	SLP - 06	1:60
TSF - 07	1:40	SLP - 07	1:10
TSF - 08	1:30	SLP - 08	1:10
TJF - 09	1:10	SLP - 09	1:30
TSF - 10	1:60		

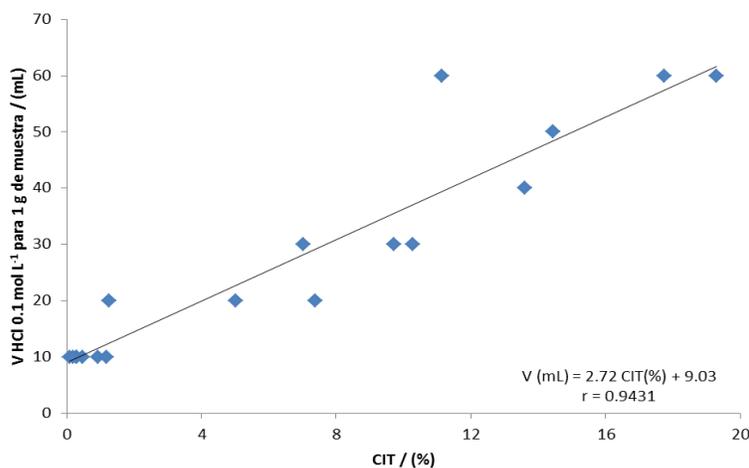


Figura 4.4.1.1. Regresión lineal entre el contenido de CIT y la cantidad (mL) de solución de HCl 0.1 mol L⁻¹ para que al agregarla a 1g de muestra de suelo, jal o residuo, se pueda obtener una mezcla con pH entre 1.8 y 2.2 por 90 min

En este sentido, las muestras de Taxco y SLP no correlacionaron con el pH, pero sí se encontró fuerte correlación con el CIT. Así, se encontró que, tomando en cuenta todas las muestras el coeficiente de correlación entre CIT y la relación suelo:solución de HCl, es altamente significativa. Con estas relaciones suelo:solución de HCl, se procedió a realizar el cálculo respectivo para conocer la cantidad de muestra necesaria para obtener 25 mL de extracto. Esto es simplemente dividiendo 25 sobre la relación suelo:solución encontrada para la muestra.

Primeramente se seleccionaron cuatro muestras de cada sector para evaluar dos tiempos de extracción (30 y 60 min). Los resultados de este primer ensayo se muestran en la Tabla 4.4.1.2.

Tabla 4.4.1.2. Concentraciones de los elementos de estudio resultado de las extracciones con HCl a pH = 2 luego de 30 y 60 minutos (t) de extracción de las muestras seleccionadas de Taxco y San Luis Potosí. Se muestran entre paréntesis las desviaciones estándar de las mediciones

Muestra	As	Cd	Cu	Pb	Zn
$\text{mg}_{\text{sol}} \text{kg}^{-1} (\text{S})$					
t = 30 min					
TJF – 01	8.6 (1.3)	29 (0.81)	16 (1.2)	193 (14)	1706 (67)
TSF – 03	16 (0.90)	26 (0.24)	30 (0.46)	73 (1.4)	1688 (16)
TSF – 07	36 (0.79)	10 (0.13)	14 (0.66)	100 (2.4)	584 (12)
TSF – 08	18 (1.1)	9.9 (0.28)	13 (0.28)	112 (4.6)	549 (15)
SLP – 01	217 (3.4)	150 (0.18)	417 (5.3)	467 (6.6)	2747 (10)
SLP – 05	2487 (4.7)	807 (2.1)	5103 (37)	2068 (61)	3175 (10)
SLP – 08	354 (11)	65 (0.47)	2001 (10)	1345 (13)	682 (11)
SLP – 09	64526 (10200)	19833 (2236)	519 (45)	7377 (564)	38876 (4569)
t = 60 min					
TJF – 01	7.8 (0.75)	28 (0.18)	18 (0.55)	209 (4.3)	1701 (35)
TSF – 03	15 (2.1)	27 (1.6)	39 (5.4)	95 (8.7)	2006 (253)
TSF – 07	39 (0.74)	11 (0.16)	16 (0.79)	115 (6.2)	674 (22)
TSF – 08	24 (1.8)	12 (1.2)	15 (1.4)	144 (13)	750 (80)
SLP – 01	224 (12)	145 (2.8)	422 (17)	490 (26)	4114 (80)
SLP – 05	2435 (128)	824 (34)	5508 (273)	2029 (99)	3281 (147)
SLP – 08	443 (77)	65 (2.4)	2138 (94)	1668 (261)	733 (63)
SLP – 09	73902 (6888)	20815 (1602)	587 (59)	7360 (260)	40970 (3119)

Aunque se observa un pequeño incremento en la concentración extraída luego de 60 min, el análisis estadístico de los resultados de estas extracciones indicó que no hay diferencia significativa entre los dos tiempos de extracción. Por lo tanto, se decidió realizar las

extracciones del resto de muestras usando el menor tiempo para lograr un método de extracción de menor duración (Tabla 4.4.1.3).

Tabla 4.4.1.3. Concentración de los metales estudiados que se disolvieron en la solución de HCl a pH = 2, con tiempo de agitación de 30 min. Entre paréntesis se muestran las desviaciones estándar de las mediciones

Muestra	As	Cd	Cu	Pb	Zn
mg soluble kg ⁻¹ (S)					
Taxco					
TJF-01	8.6 (1.3)	29 (0.81)	16 (1.2)	193 (14)	1706 (67)
TJF-02	5.2 (0.52)	24 (0.46)	28 (0.95)	77 (2.2)	1790 (33)
TJF-03	16 (0.90)	26 (0.24)	30 (0.46)	73 (1.4)	1688 (16)
TSF-04	3.1 (0.14)	3.3 (0.028)	3.8 (0.16)	24 (0.70)	224 (3.5)
TSF-05	2.7 (0.25)	2.3 (0.094)	1.5 (0.24)	10 (0.13)	116 (3.7)
TSF-06	16 (0.78)	14 (0.22)	16 (0.16)	54 (2.2)	1115 (14)
TSF-07	36 (0.79)	10 (0.13)	14 (0.66)	100 (2.4)	584 (12)
TSF-08	18 (1.1)	10 (0.28)	13 (0.28)	112 (4.6)	549 (15)
TJF-09	< 2 ^a	0.73 (0.041)	1.5 (0.16)	19 (0.67)	19 (0.52)
TSF-10	7.3 (0.62)	3.1 (0.11)	6.2 (0.080)	50 (1.6)	91 (2.6)
San Luis Potosí					
SLP-01	217 (3.4)	150 (0.18)	417 (5.3)	467 (6.6)	2747 (10)
SLP-02	1215 (70)	113 (9.4)	415 (30)	2441 (83)	653 (52)
SLP-03	2945 (64)	305 (5.8)	4352 (66)	7978 (143)	2202 (41)
SLP-04	10492 (1151)	298 (30)	611 (62)	1456 (152)	3217 (369)
SLP-05	2487 (4.7)	807 (2.1)	5103 (37)	2068 (61)	3175 (10)
SLP-06	25372 (439)	2682 (19)	7053 (70)	14119 (750)	108715 (795)
SLP-07	6877 (45)	4262 (43)	9601 (117)	1556 (54)	27202 (389)
SLP-08	354 (11)	65 (0.47)	2001 (10)	1345 (13)	682 (11)
SLP-09	64526 (10200)	19833 (2236)	519 (45)	7377 (564)	38876 (4569)

^a Corresponde al límite de detección del método para el elemento

Lo que se puede derivar de los resultados de la Tabla 4.4.1.3 es que los coeficientes de variación para cada una de las muestras y elemento analizado se mantuvieron dentro del margen de error aceptado por el laboratorio (20%).

En la Figura 4.4.1.2 puede observarse que, para Pb, la mayoría de muestras tuvieron menor concentración en la extracción con HCl. Esto concuerda con lo encontrado por Ruby *et al.* (1993)¹⁵. En su artículo se atribuye este decremento (20% en solubilidad máxima del Pb) a la ausencia de los ácidos orgánicos.

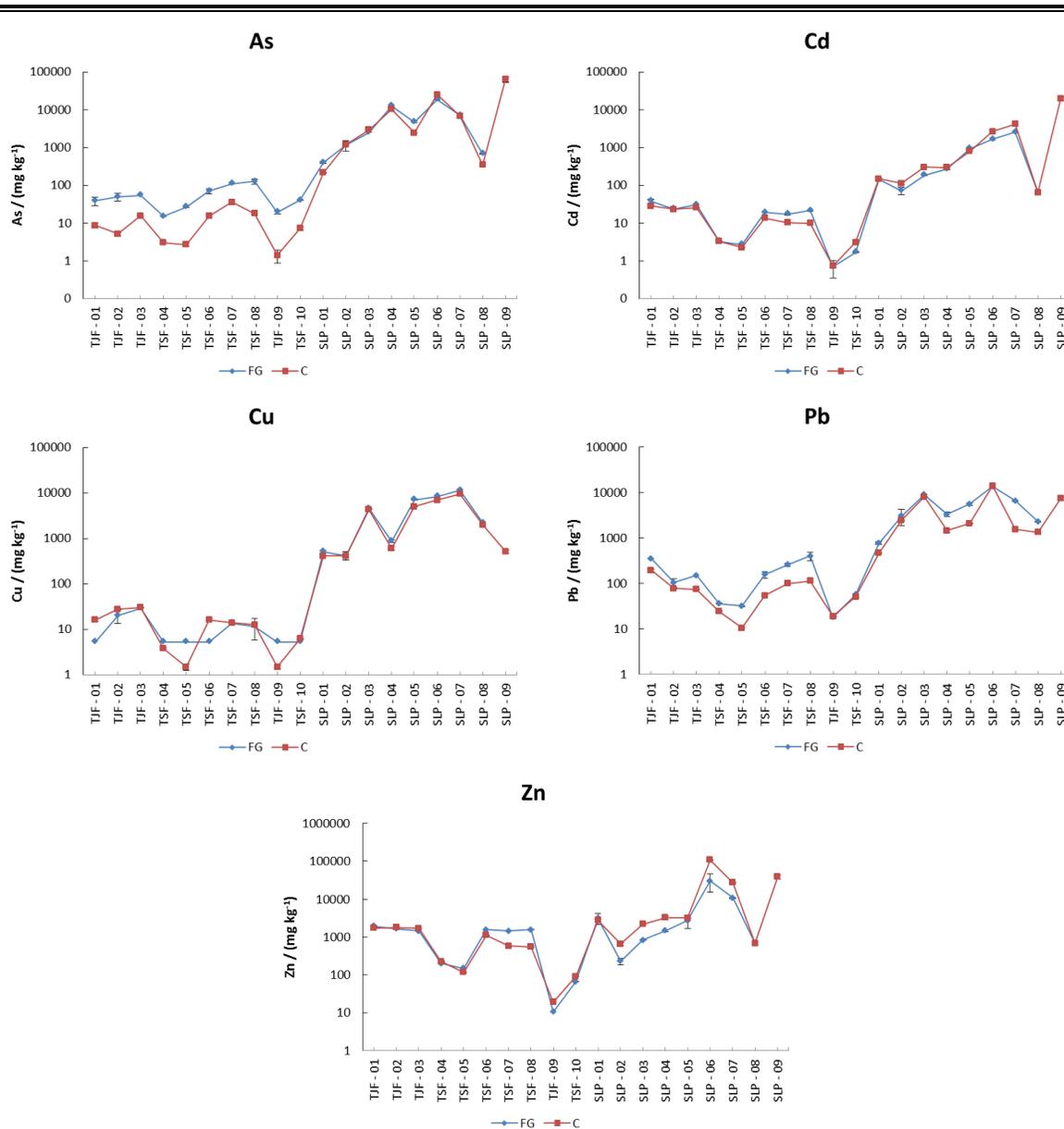


Figura 4.4.1.2. Comparación general de las concentraciones en la FG y las extracciones con HCl a pH = 2 (C). Se muestran las barras de error que en la mayoría de los casos son tan pequeñas que el tamaño del marcador no permite visualizarlas. Se enlazaron los datos usando líneas solamente como ayuda visual

El As en Taxco también mostró un decremento en la fase de HCl con respecto a la FG, así como en SLP para Cu. Sin embargo, en Cd y Zn para todas las muestras y en Cu para Taxco, no se observó una tendencia clara en este sentido. Sin embargo, lo más importante es que exista una alta correlación lineal, puesto que siempre a través de ésta se puede convertir a la verdadera bioaccesibilidad en la FG. Una mejor apreciación de lo antes mencionado está en las correlaciones de la Figura 4.4.1.3, la que se acompaña de una recta de pendiente uno para comparación.

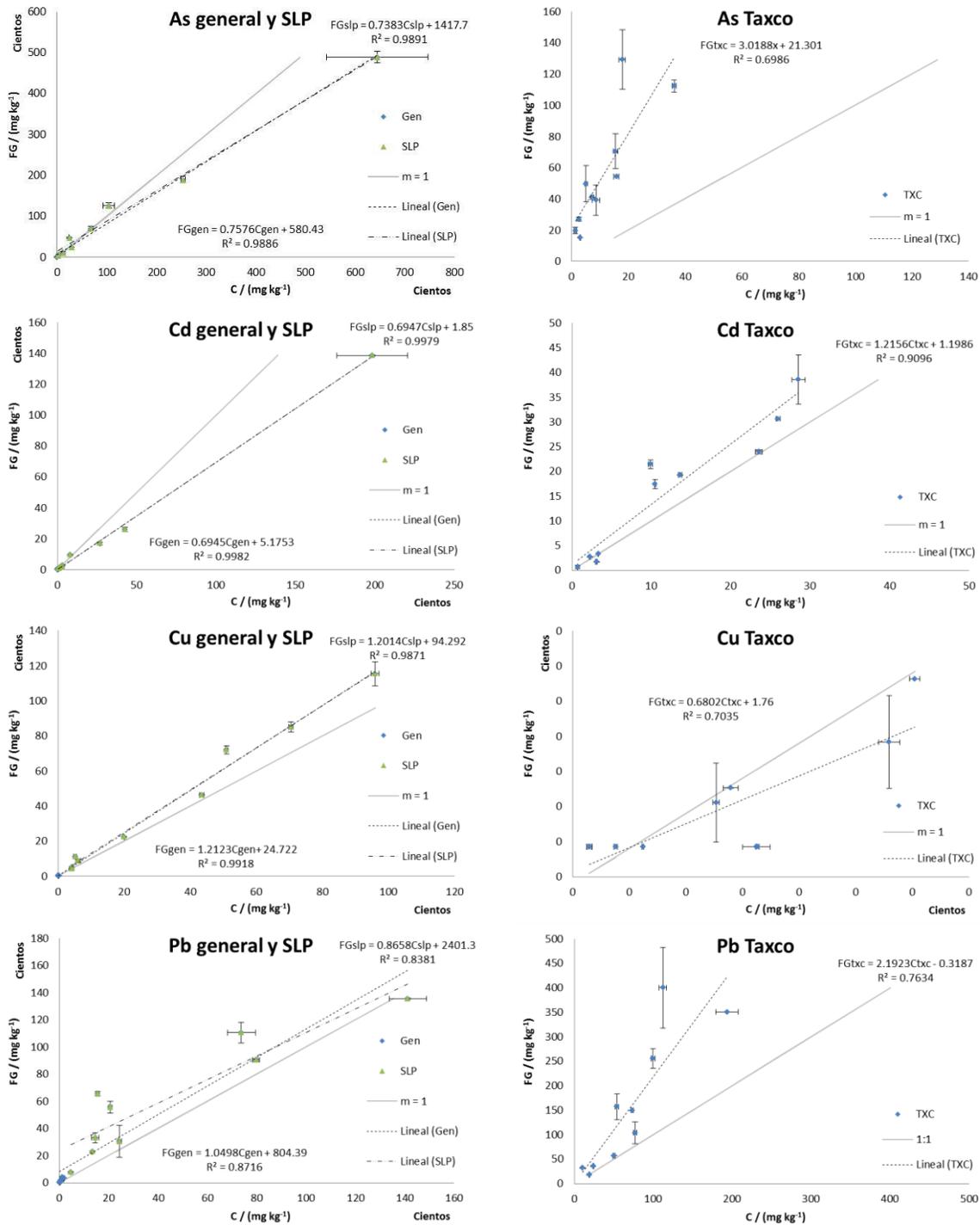


Figura 4.4.1.3. Rectas de regresión entre las extracciones con HCl a pH = 2 (C) vs las concentraciones en la FG para cada sitio de estudio. La línea continua representa la recta teórica si la relación entre las dos extracciones tuviese una pendiente de uno (m = 1)

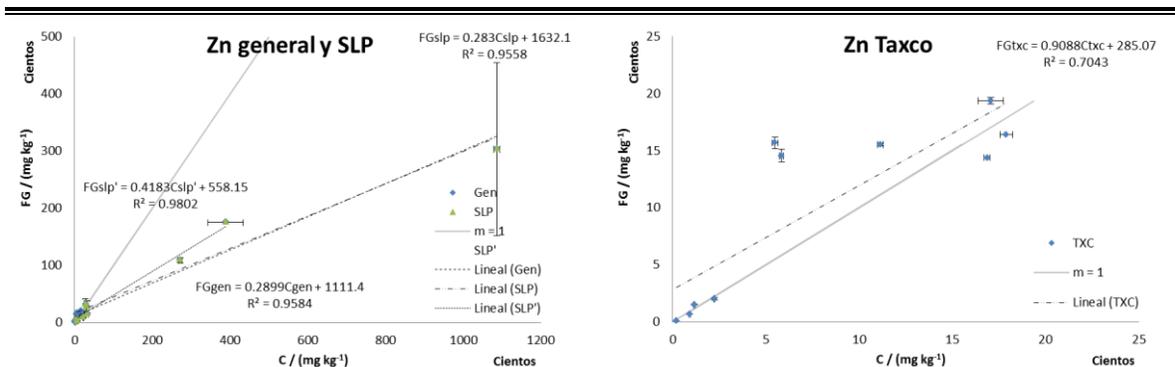


Figura 4.4.1.3. (Continuación) En SLP no se tomó en cuenta al mayor valor de bioaccesibilidad registrado para Zn. Se proporcionan las ecuaciones de las rectas correspondientes para cada elemento y sus valores de coeficiente de determinación

Los análisis de regresión lineal (Figura 4.4.1.3 y Tabla 4.4.1.4) de todas las muestras indican una muy alta correlación (r de 0.99 o mayores), y menor para Pb ($r = 0.93$) y Zn ($r = 0.98$). Esto es muy significativo puesto que sugiere que el método sencillo de extracción simple con HCl puede utilizarse para calcular los contenidos esperables en la FG de una muestra.

Tabla 4.4.1.4. Parámetros de la recta de regresión (HCl a pH = 2 vs FG) calculados para todas las muestras por elemento de modo general y para cada sitio de estudio

Parámetro	As	Cd	Cu	Pb	Zn
General					
r	0.994	0.999	0.996	0.934	0.979
m	0.76	0.69	1.2	1.0	0.29
b	580	5.2	25	804	1111
San Luis Potosí					
r	0.995	0.999	0.994	0.915	0.978
m	0.74	0.69	1.20	0.87	0.28
b	1418	1.8	94	2401	1632
Taxco					
r	0.836	0.954	0.839	0.874	0.839
m	3.02	1.22	0.68	2.19	0.91
b	21	1.2	1.8	-0.3	285

La ecuación lineal es $FG = mC + b$ donde, FG es la concentración en la FG; C es la concentración en la extracción con HCl a pH = 2; m es la pendiente de la recta y b es la intersección con el eje de las ordenadas

Las pendientes de las líneas son menores a uno para As y Cd ($m = 0.76$ y 0.69 , respectivamente), cercanas a la unidad para Cu ($m = 1.2$) y Pb ($m = 1.0$) y muy por debajo de uno para Zn ($m = 0.29$). Esto indica que el uso exclusivo de soluciones de HCl, extraen

la misma cantidad o menor que el sistema simulado de la FG, es decir, la contribución de los otros ácidos de la FG es evidente para tres de los elementos, pero no lo es para Cu y Pb.

Al comparar los valores de las ecuaciones generales y las de SLP se puede apreciar que los valores de “r” y “m” son muy similares (Tabla 4.4.1.4). Esto está indicando el dominio de las altas concentraciones de las muestras de SLP en el cálculo de estos dos parámetros. De hecho, si se observan los valores de Taxco únicamente, el cuadro cambia completamente y la linealidad, para todos los elementos estudiados, baja considerablemente, excepto para Cd ($r = 0.98$) y con el As ($r = 0.96$) si no se considera a la muestra TSF-08 que tiene la mayor concentración en la FG. Se especula que esto se debe a las bajas concentraciones obtenidas, en muchos casos por debajo de los límites de detección y, por tanto, a incertidumbres analíticas que causan mayor variabilidad en los resultados de ambas extracciones (FG y HCl). Se propone la repetición de los experimentos de extracción de las muestras de Taxco, optimizando los procedimientos analíticos para disminuir las incertidumbres en los resultados y confirmar si se obtiene una linealidad aceptable.

Se realizó el mismo análisis de correlación entre la extracción con HCl a $\text{pH} = 2$ y las concentraciones en la FI. Los resultados se presentan en la Tabla 6.3.1 del Anexo 6.3 de manera general y para cada sector. Los parámetros generales calculados indican que el As y el Cu tienen una fuerte correlación entre estas dos extracciones, pero sus valores de pendiente (m) son diferentes de la unidad ($m \neq 1$). Los valores de “r” y “m” para As y Cu en SLP fueron similares a los generales siendo la gran diferencia los valores de “b”. Solamente el As en Taxco presentó fuerte correlación y su pendiente no fue igual a uno.

Similar a lo sucedido con la extracción en la FG, las altas concentraciones de As y Cu de los EPT solubles en la FI en SLP, dominaron al realizar las operaciones de cálculo en los parámetros generales. Sin embargo, al considerar sólo las bajas concentraciones en la regresión, los valores de “r” disminuyen hasta ya no presentar correlación alguna para el As ($r = 0.225$) y en el caso del Cu se mantiene la correlación ($r = 0.892$). Lo mismo se observó con el As en Taxco.

En fin, puede decirse que la extracción con HCl a $\text{pH} = 2$, puede ser usada como un potencial remplazo para la extracción en la FG según el método *PBET* desarrollado por Ruby et al (1993)¹⁵ en el sector de SLP. Sin embargo, se deben tener muy en cuenta las correcciones respectivas según los parámetros de las rectas de regresión que se presentaron en la Tabla 4.4.1.4 para el cálculo de la concentración en la FG debido a que la relación entre estas dos extracciones no es uno a uno.

4.4.1.1. Extracción con HCl a $\text{pH} = 2$ en la determinación de la bioaccesibilidad en la FG

Se procedió a recalcular las concentraciones en la FG que se predecirían a partir de las concentraciones extraídas en HCl utilizando los parámetros de las regresiones lineales de

las correlaciones encontradas (FG_{calc}) de acuerdo con la Tabla 4.4.1.4, pero solamente para SLP y para Cd y Zn en Taxco. Con esto se evaluó el error cometido por dicho procedimiento, en caso que se aplicaran únicamente extracciones con HCl.

Con los parámetros lineales calculados que se muestran en la Tabla 4.4.1.4, se procedió a encontrar las correspondientes concentraciones en FG de cada uno de los elementos de estudio que se graficaron como se aprecia en la Figura 4.4.1.1. En la figura citada es posible observar que las concentraciones corregidas usando los parámetros de la recta de regresión de cada una de las localidades estudiadas de forma separada, se ajustan de mejor manera con los resultados experimentales, al igual que los calculados con los parámetros generales para Cd y Zn. Esto ya se mencionó anteriormente.

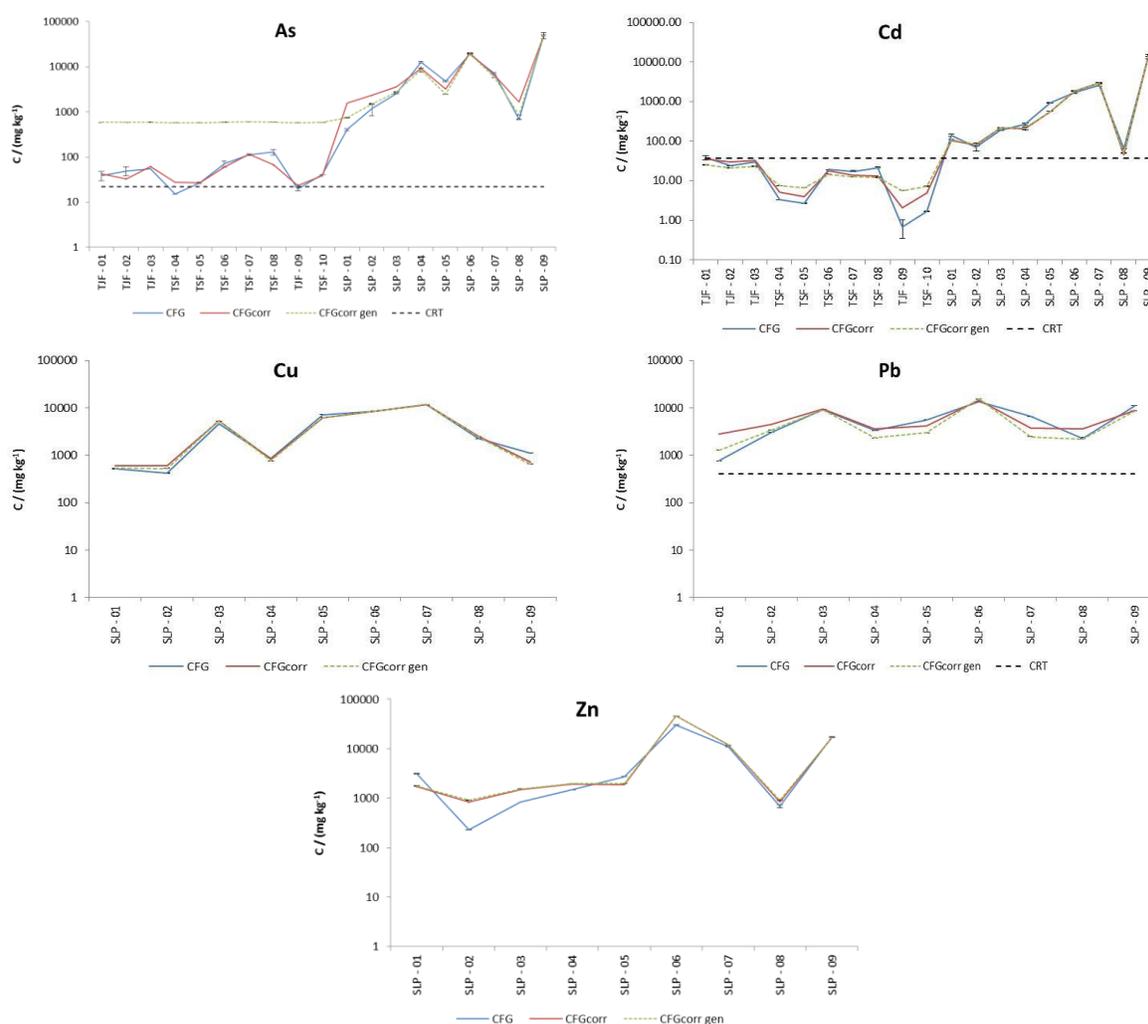


Figura 4.4.1.1.1. Comparación de las concentraciones experimentales de la FG y las calculadas a partir de las concentraciones del extracto de HCl a pH = 2. Se incluyeron las concentraciones de referencia de Norma Oficial Mexicana SEMARNAT 147⁸⁸. Cu y Zn no presentan los valores de CR_T porque en la Norma Oficial Mexicana no se proporcionan

Habiendo realizado estas observaciones del comportamiento de las concentraciones calculadas y las experimentales, se realizó el cálculo de los porcentajes de error con respecto al valor real de la FG, que se muestran en la Tabla 4.4.1.1.1. De estos resultados obtenidos, es evidente que los errores encontrados con el cálculo de la concentración en la FG usando la recta de regresión lineal general son bastante aceptables. Con la excepción del Zn, el cual pese a que en la Figura 4.4.1.1.1 puede observarse una tendencia muy cercana de los valores calculados con los datos experimentales, los porcentajes de error para este elemento son muy elevados.

Tabla 4.4.1.1.1. Porcentajes de error con respecto al valor experimental de las concentraciones calculadas a partir de los parámetros de regresión general

Muestra	As	Cd	Cu	Pb	Zn
% error					
Taxco					
TJF - 01		30			31
TJF - 02		28			16
TJF - 03		29			7.5
TSF - 04		43			258
TSF - 05		71			352
TSF - 06		18			30
TSF - 07		11			40
TSF - 08		9			45
TJF - 09		172			5906
TSF - 10		47			901
San Luis Potosí					
SLP - 01	84	3.1	3.4	69	43
SLP - 02	29	4.1	24	10	294
SLP - 03	11	1.5	15	1.5	87
SLP - 04	33	1.6	12	30	34
SLP - 05	49	0.56	14	47	28
SLP - 06	4.2	0.15	1.0	15	52
SLP - 07	19	0.08	1.1	63	10
SLP - 08	24	7.1	10	3.1	32
SLP - 09	1.2	0.0081	41	23	3.7

4.4.2. Acetato de amonio

Ya se ha mencionado que el uso de una solución de NH_4OAc 1 mol L^{-1} ayuda a evaluar las bases intercambiables. La solución, en este estudio, fue amortiguada a pH 7 para evitar la disolución de los carbonatos³⁶. Los elementos así extraídos representan a la fracción más

fácilmente biodisponible en un suelo contaminado y pueden, por tanto, presentar un riesgo para el ambiente^{38, 39}. Con esta introducción se procede a presentar los resultados de las extracciones (Tabla 4.4.2.1) con NH_4OAc 1 mol L^{-1} según el método descrito por Zhang *et al.* (2010)⁸⁷.

El cálculo de los coeficientes de variación indica que la mayoría de las muestras se mantienen bajo el límite aceptado para el laboratorio (20%); sin embargo, debido a los bajos valores obtenidos en general, muchos cercanos al límite de detección, algunos errores relativos fueron altos.

Tabla 4.4.2.1. Contenido de los metales estudiados que se disolvieron en la solución de NH_4OAc 1 mol L^{-1} a $\text{pH} = 7$ con 1 h de agitación. Entre paréntesis se muestran las desviaciones estándar de las mediciones

Muestra	As	Cd	Cu	Pb	Zn
	$\text{mg}_{\text{soluble}} \text{kg}^{-1}$				
Taxco					
TJF – 01	0.089 (0.0031)	6.2 (0.28)	1.5 (0.071)	3.3 (0.15)	147 (4.0)
TJF – 02	0.092 (0.0073)	1.8 (0.070)	0.76 (0.063)	0.026 (0.0036)	34 (2.0)
TJF – 03	0.13 (0.016)	2.9 (0.14)	0.92 (0.020)	0.13 (0.017)	44 (2.0)
TSF – 04	0.12 (0.010)	0.27 (0.010)	0.10 (0.014)	0.13 (0.0070)	4.1 (0.18)
TSF – 05	0.15 (0.030)	0.15 (0.024)	0.090 (0.011)	0.091 (0.011)	2.6 (0.79)
TSF – 06	0.21 (0.013)	0.37 (0.021)	0.12 (0.0076)	0.094 (0.0027)	7.3 (0.19)
TSF – 07	1.3 (0.092)	1.8 (0.17)	0.44 (0.030)	0.91 (0.16)	12 (1.2)
TSF – 08	1.9 (0.24)	0.88 (0.11)	0.42 (0.052)	0.43 (0.030)	15 (1.5)
TJF – 09	0.010 (0.0008)	0.054 (0.0049)	0.051 (0.017)	0.16 (0.0094)	1.2 (1.2)
TSF – 10	0.041 (0.0023)	0.090 (0.0067)	0.13 (0.065)	0.33 (0.0049)	7.7 (2.4)
San Luis Potosí					
SLP – 01	26 (0.78)	65 (1.3)	32 (0.69)	36 (0.87)	436 (4.0)
SLP – 02	34 (3.5)	27 (2.1)	73 (6.3)	393 (28)	75 (9.2)
SLP – 03	84 (13)	26 (2.2)	574 (47)	298 (5.6)	95 (8.0)
SLP – 04	916 (74)	10 (0.66)	23 (1.2)	4.9 (0.33)	27 (3.3)
SLP – 05	279 (35)	110 (7.3)	511 (44)	56 (2.0)	295 (12)
SLP – 06	935 (378)	40 (0.20)	742 (7.1)	10 (0.44)	1830 (3.3)
SLP – 07	92 (2.0)	339 (9.0)	778 (21)	177 (3.1)	1051 (23)
SLP – 08	28 (1.4)	22 (0.35)	370 (4.7)	172 (11)	114 (0.83)
SLP – 09	19149 (479)	775 (7.7)	0.64 (0.029)	61 (2.2)	821 (46)

En la Figura 4.4.2.1 se puede apreciar una comparación de las concentraciones de las extracciones en la FI y con NH_4OAc . Muy notorio es para As, Cu y en la mayoría de las muestras para Pb y Zn que las concentraciones en la FI son elevadas en relación con las del extracto de NH_4OAc . Para el Cd hubo mucha variabilidad en este sentido.

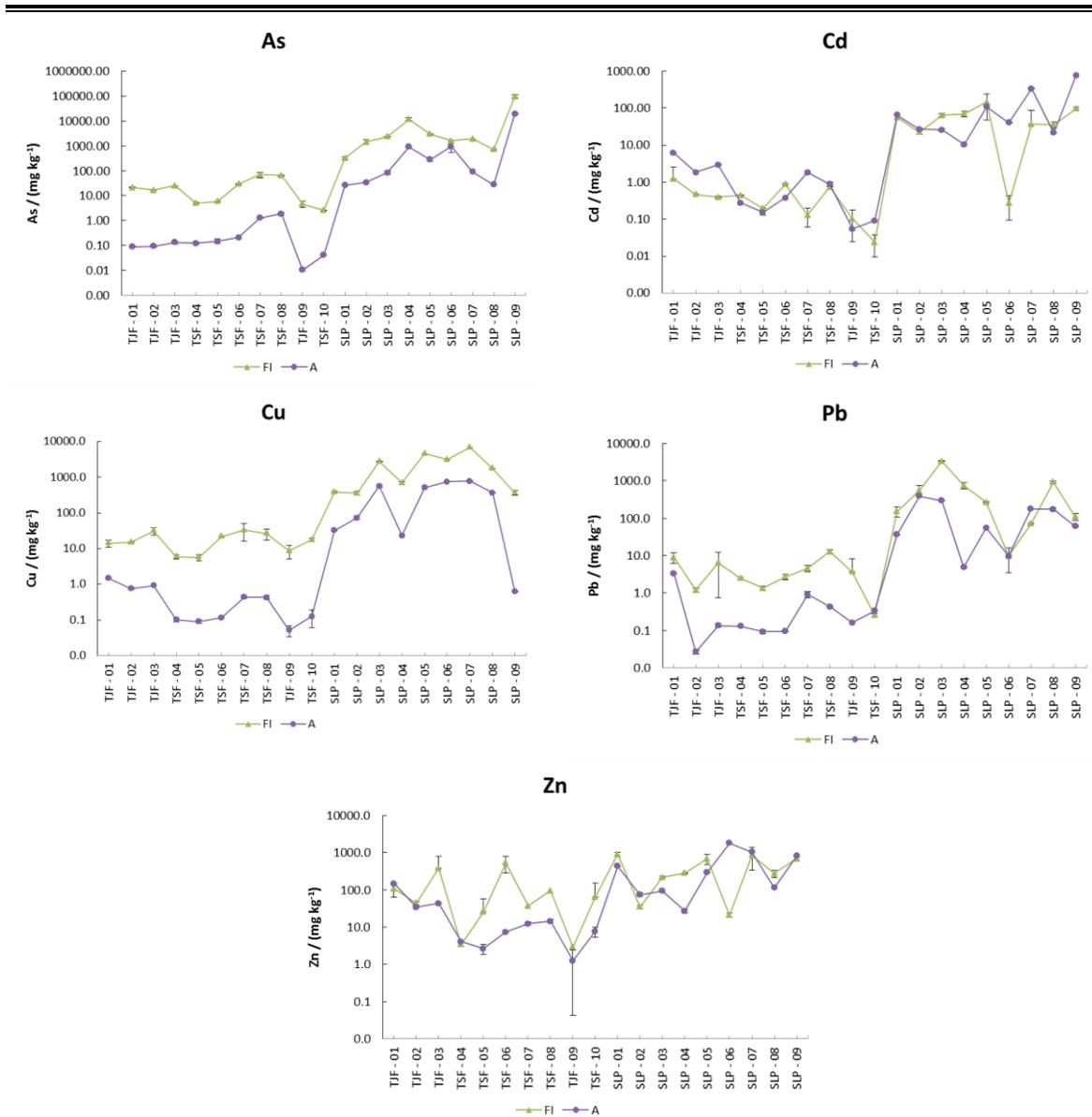


Figura 4.4.2.1. Comparación de las concentraciones en FI y las concentraciones con NH₄OAc 1 mol L⁻¹ a pH 7

Las bajas concentraciones en las extracciones con NH₄OAc es un indicativo de que existen muy pocas especies formando complejos de esfera externa o que sean especies minerales fácilmente solubles. Sin embargo, en los casos en que las concentraciones de extracción con NH₄OAc son mayores que las obtenidas en la FI, esto puede ser un indicador de que la presencia de iones bicarbonato de la FI produce especies de EPT que se insolubilizan/inmovilizan considerablemente en esas muestras.

La Tabla 4.4.2.2 muestra los elementos que tuvieron altas correlaciones lineales de los resultados de la extracción con NH₄OAc y los de las FG y FI. De nuevo, la FG presentó

correlaciones para todos los elementos excepto Cd en SLP, pero sólo para Cd en Taxco. En el caso de la FI, sólo correlacionó para As en Taxco, y Cu en SLP. Los parámetros de regresión lineal se presentan en las Tablas 6.3.2 y 6.3.2 del Anexo 6.3. En todos los casos en que hubo correlación significativa, la pendiente fue muy superior a uno, lo cual es indicativo de las bajas concentraciones extraídas con NH₄OAc en comparación con ambas fases de la prueba *PBET*.

Tabla 4.4.2.2. Ecuaciones de las regresiones lineales que tuvieron fuertes correlaciones entre la extracción con NH₄OAc 1 mol L⁻¹ y los extractos de FG y FI según el método *PBET*

	As	Cd	Cu	Zn
Fase Gástrica				
Taxco		FG = 6.0A + 7.3 r = 0.858		
SLP	FG = 2.3A + 5259 r = 0.937		FG = 12A + 9.4 r = 0.930	FG = 16A - 1092 r = 0.958
Fase Intestinal				
Taxco	FI = 35A + 11 r = 0.906			
SLP			FI = 6.2A + 188 r = 0.877	

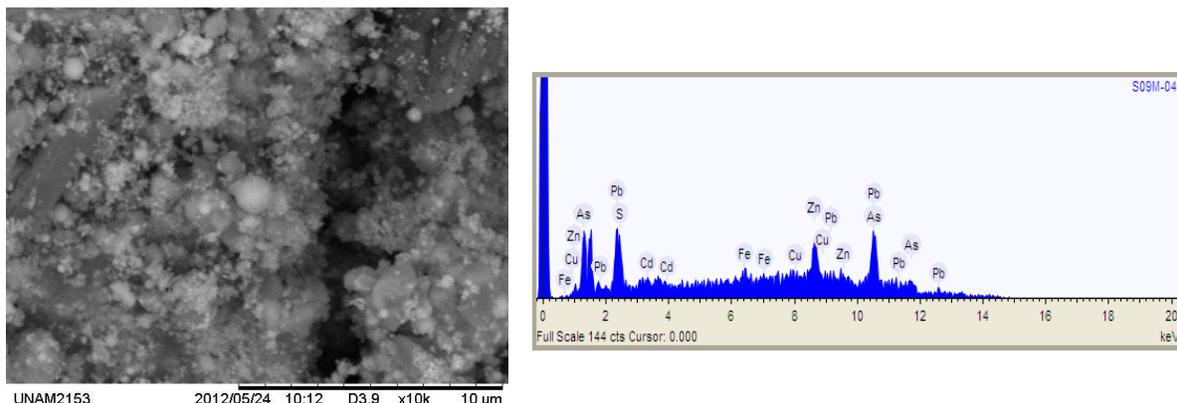
A es la concentración (mg kg⁻¹) del elemento en la extracción realizada con NH₄OAc 1 mol L⁻¹

4.5. Microscopía electrónica de barrido

Se realizaron observaciones microscópicas usando un microscopio electrónico de barrido ambiental (SEM) Hitachi TM-1000. Las muestras que se observaron fueron primeramente tamizadas para obtener partículas de tamaño menor a 38 µm y también se observaron las muestras tamizadas por malla 60 (partículas < 250 µm) que fueron previamente molidas.

Debe recordarse que al usar un microscopio ambiental, debido al bajo vacío que éstos usan, no son capaces de realizar el análisis *EDS* de C y O, y el 100% reportado en los análisis cuantitativos no los considera y, por tanto, es un tanto arbitrario, pero permiten comparar relativamente los contenidos de los elementos que sí detecta.

La Figura 4.6.1 muestra la imagen de una de las partículas esféricas que fueron muy comunes en SLP. Puede apreciarse que el porcentaje de As en esta partícula es elevada junto con el Pb. Romero *et al.* (2008)¹²² identificó a estas esferas como arseniato de Pb.



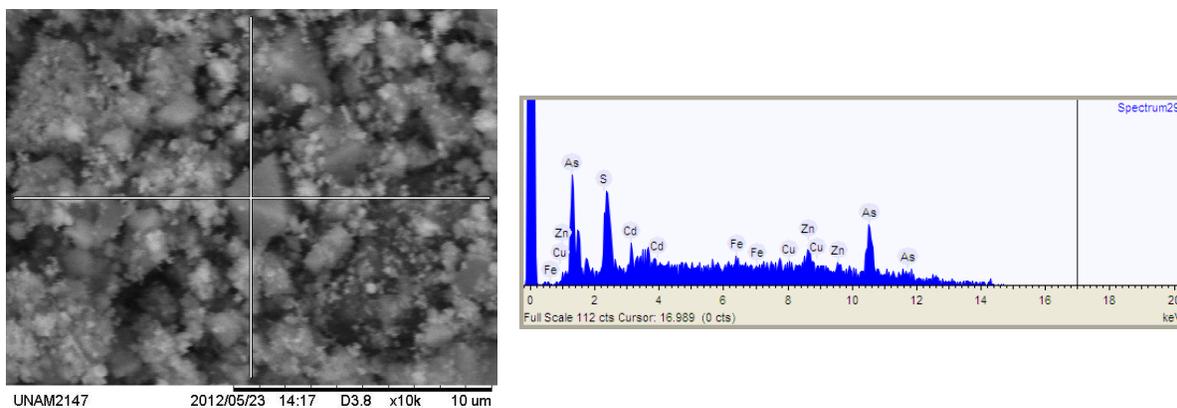
Elemento	% en masa
Azufre	2.7
Hierro	0.0
Cobre	7.8
Zinc	8.2
Arsénico	31.6
Cadmio	12.1
Plomo	37.6

Figura 4.6.1. Micrografía de la muestra SLP-09 de la fracción de muestra < 250 μm molida. Se puede observar una esfera blanca en el centro de la imagen. Se muestra también el análisis *EDS* en esta partícula

Sin embargo, se puede observar la presencia de Cd, Cu, Zn y S, los cuales se pueden asociar con la presencia de partículas con una compleja composición química, donde el Pb es el elemento mayor pero tienen asociadas concentraciones bajas de estos elementos como fases complejas dentro del sulfato de Pb ¹²².

En la Figura 4.6.2 puede observarse que el cristal de forma octaédrica al que se realizó el análisis *EDS* presenta una concentración predominante de As. Estos cristales corresponden a la arsenolita (As_2O_3), aunque adicionalmente muestran concentraciones importantes de Cd, Fe, S, y Zn.

Las muestras que Romero *et al.* (2008)¹²² estudiaron del mismo sitio en San Luis Potosí, contenían cantidades importantes de arsenolita (As_2O_3) y arseniato de K y Pb [$\text{Pb}_3\text{K}_2(\text{AsO}_4)_2(\text{SO}_4)$].

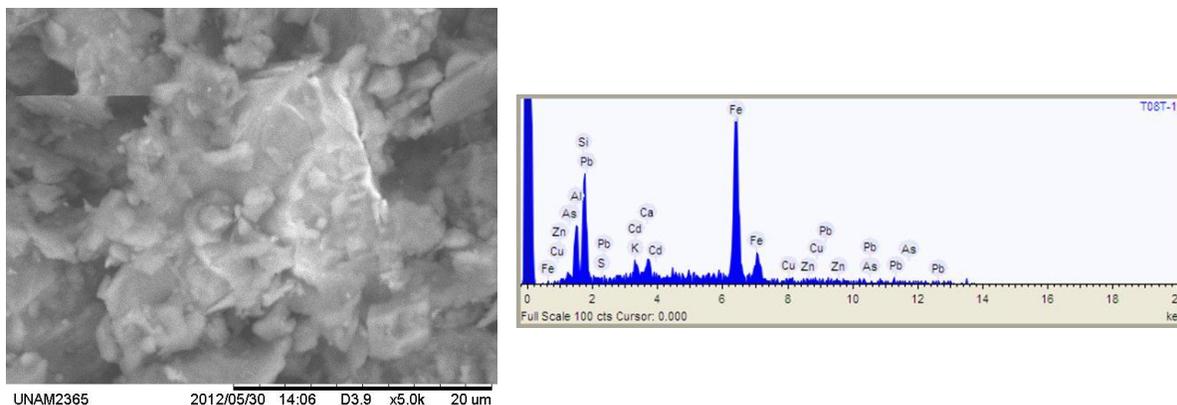


Elemento	% en masa
Azufre	6.5
Hierro	10.2
Cobre	0.0
Zinc	5.8
Arsénico	59.6
Cadmio	17.9

Figura 4.6.2. Micrografía de la muestra SLP-09 de la fracción de muestra < 38 μm . Se puede observar un cristal piramidal en el centro de la imagen. Se muestra también el análisis *EDS* de esta partícula

Para Taxco, se analizó la fracción < 38 μm de la muestra de suelo TSF-08. En la Figura 4.6.3 se muestra uno de los varios puntos que se observaron y que se analizaron por *EDS*.

No fue posible observar claras asociaciones de los EPT, pese a ser la muestra con mayor concentración de los EPT de estudio en Taxco. Sin embargo, las altas concentraciones de Fe en estas muestras podrían ser un claro indicativo de la presencia de minerales férricos que podrían asociar a los elementos de estudio. La disminución en los picos puede ser debido a la presencia de elementos que no pudieron ser detectados por el equipo (O y C). Las observaciones realizadas en esta sección deben ser contrastadas con los análisis por difracción de rayos X.



Elemento	% en masa
Aluminio	7.7
Silicio	12.1
Azufre	0.1
Potasio	1.6
Calcio	2.3
Hierro	73.9
Zinc	0.5
Arsénico	1.8

Figura 4.6.3. Micrografía de la muestra TSF-08 de la fracción de muestra < 38 μm . Se muestra también el análisis *EDS* de esta partícula

4.6. Difracción de rayos X

La finalidad de la difracción de rayos X es la de proporcionar información acerca de la composición mineralógica cristalina que se puede encontrar en una muestra. Las muestras que se seleccionaron para someterlas a este método de análisis fueron la SLP-02 (menos bioaccesible en la FG) y SLP-05 (más bioaccesible en la FG) por las razones que ya se mencionaron en la sección 3.2.9 (concentraciones totales de Pb y As altas y similares, pero concentraciones bioaccesibles diferentes).

Los difractogramas de los dos suelos seleccionados se muestran en la Figura 4.6.1. Los análisis preliminares burdos de los patrones de difracción para las dos muestras, interpretando los picos mayores, resultaron en una composición de fases mayores similares en ambas, encontrándose: cuarzo [SiO_2], plagioclasa de composición intermedia [$(\text{CaNa})(\text{SiAl})_4\text{O}_8$], jarosita $\text{KFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$, calcita [CaCO_3], pirita [FeS] y hematita [Fe_2O_3].

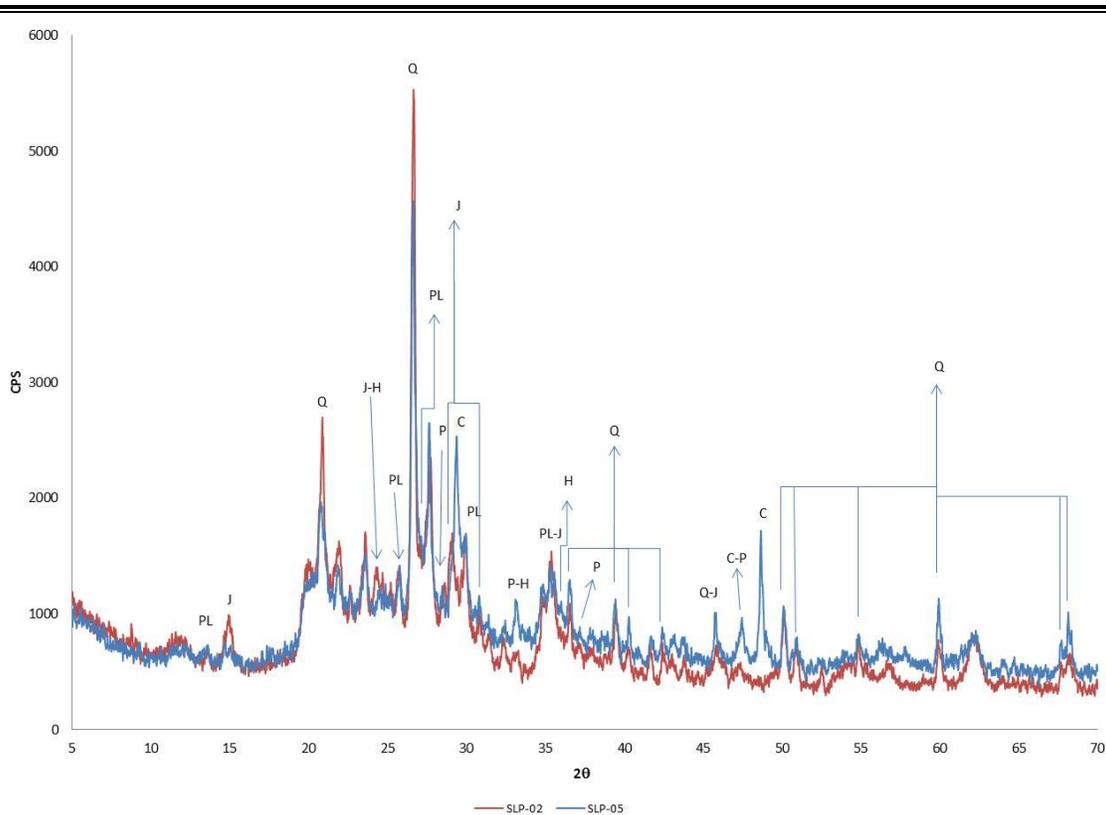


Figura 4.6.1. Patrones de difracción de las muestras SLP-02 (menos bioaccesible en la FG) y SLP-05 (más bioaccesible en la FG). Se muestran las asignaciones de la plagioclasa (PL), jarosita (J), cuarzo (Q), calcita (C), pirita (P) y hematita (H) que fueron reportados

Sin embargo, al sobreponer ambos difractogramas, son evidentes diferencias en varios picos entre las dos muestras, por lo que el uso del programa MATCH! 2 resultó en una gran ayuda en la identificación de los picos no asignados.

El análisis de las concentraciones totales por FRX de las dos muestras que se sometieron a DRX se presenta en la Tabla 4.6.1.

Tabla 4.6.1. Concentraciones totales, medidas por FRX, de las muestras seleccionadas para análisis por DRX

Muestra	Ca	Fe	Mn	S	As	Cd	Cu	Pb	Zn
	mg kg^{-1}								
SLP – 02	< 500	13402	147	< 6000	7985	45	1001	8188	2108
SLP – 05	< 500	15356	176	< 6000	7472	419	9268	6955	5140

En esta tabla se puede ver que el Fe, As y Pb son elementos que se encuentran en mayor concentración que los demás. En el MATCH! 2 interesa entonces encontrar minerales en los que estos elementos se encuentren, sin descartar al S que debido al elevado límite de

detección del equipo no pudo ser cuantificado y que debido a las características de aireación del sitio y a la fuerte oxidación que ocurre en el tratamiento metalúrgico, debe ser considerado en forma de $(\text{SO}_4)^{2-}$ (Figura 4.6.2).

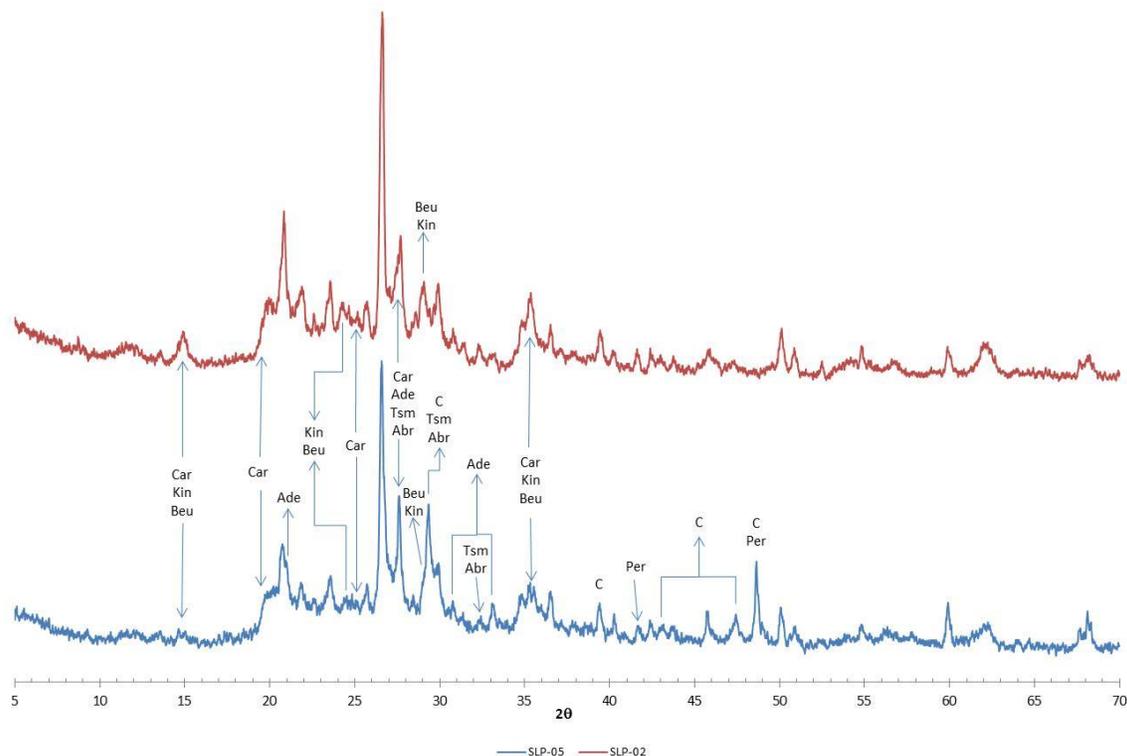


Figura 4.6.2. Patrones de difracción de las muestras SLP-02 (menos bioaccesible en FG) y SLP-05 (más bioaccesible en la FG). Se muestran las asignaciones hechas por el MATCH! 2 de la carminita (Car), beudantita (Beu), kintoreita (Kin), calcita (C), arsendescloizita (Ade), tsumcorita (Tsm), arsenbrackebuschita (Abr) y periclase (Per)

Usando el MATCH! 2 y haciendo énfasis en los elementos As, Pb, Fe y S, se encontró que la muestra SLP-02 tiene minerales como la carminita $[\text{PbFe}_2(\text{AsO}_4)_2(\text{OH})]$, la kintoreita $[\text{PbFe}_3(\text{PO}_4)_2(\text{OH}, \text{H}_2\text{O})_6]$ y beudantita $[\text{PbFe}_3(\text{AsO}_4)(\text{SO}_4)(\text{OH})_6]$; La muestra SLP-05 presentó mayor cantidad de minerales de esos cuatro elementos, entre los que el programa detectó: carminita, arsendescloizita $[\text{PbZn}(\text{AsO}_4)(\text{OH})]$, tsumcorita $[\text{Pb}(\text{Zn}, \text{Fe})_2(\text{AsO}_4)_2(\text{OH}, \text{H}_2\text{O})_2]$, arsenbrackebuschita $[\text{Pb}(\text{Zn}, \text{Fe})(\text{AsO}_4)_2(\text{OH}, \text{H}_2\text{O})]$, kintoreita, beudantita, thometzekita $[\text{Pb}(\text{Cu}, \text{Zn})_2(\text{AsO}_4)_2(\text{OH}, \text{H}_2\text{O})_2]$ y duftita $[\text{PbCu}(\text{AsO}_4)(\text{OH})]$. Las asignaciones de los minerales se presentan en la Figura 4.6.2.

La presencia de minerales con Zn y Cu en la muestra SLP-05 es lo esperado debido a la mayor concentración de estos dos elementos en esta muestra con respecto a SLP-02. La presencia de cuarzo en las dos muestras fue evidente y adicionalmente en la muestra SLP-05 se registró a la periclase (MgO) y a la calcita (CaCO_3).

A la muestra SLP-02 (menos bioaccesible) se le realizó un tratamiento adicional para intentar concentrar a los minerales de tamaños de partícula pequeños, que presumiblemente contienen a los EPT de estudio y disminuir la cantidad de cuarzo. Se dejó decantar a las partículas más grandes en una suspensión de la muestra de suelo en agua desionizada. El sobrenadante se secó, molió y se procesaron sus difractogramas. La Figura 4.6.3 presenta los difractogramas de la muestra SLP-2 antes y después del tratamiento descrito.

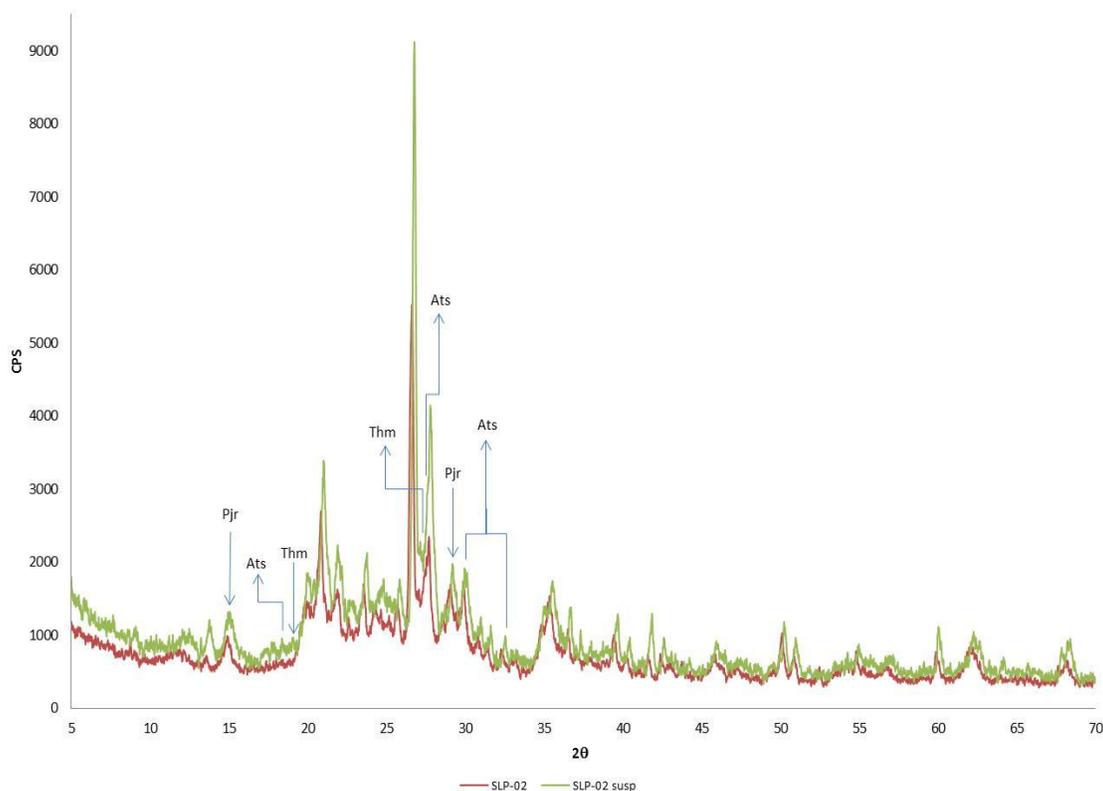


Figura 4.6.3. Patrones de difracción de la muestra SLP-02 (menos bioaccesible) antes y después del tratamiento para concentrar minerales por suspensión. Se muestran las asignaciones hechas por el MATCH! 2 de la plumbojarosita (Pjr), arsentsumbita (Ats) y thomtzekita (Thm)

Como es posible apreciar del patrón de difracción, no fue posible disminuir la intensidad de los picos del cuarzo ($2\theta = 26.78$, principalmente). Mas bien éstos se intensificaron al igual que los demás picos observados. El primer reporte de esta muestra tratada da cuenta de la presencia de plumbojarosita $[\text{PbFe}_6(\text{SO}_4)_4(\text{OH})_{12}]$ y de fases de baja cristalinidad. Al correr el difractograma en el MATCH! 2, el programa presentó tres minerales de As, Pb, Fe y S, adicionales a los ya identificados. Estos son la arsentsumbita $[\text{Pb}_2\text{Cu}(\text{AsO}_4)_2(\text{SO}_4)(\text{OH})]$, ludlockita $[\text{PbFe}^{3+}_4\text{As}^{3+}_{10}\text{O}_{22}]$, y la thomtzekita $[\text{Pb}(\text{Cu}, \text{Zn})_2(\text{AsO}_4)_2(\text{OH}, \text{H}_2\text{O})_2]$. La presencia de la ludlockita, sin embargo, es poco probable porque no se espera en residuos metalúrgicos la presencia de As(III), sino de As(V).

Pese a la identificación de estas formas minerales en cada una de estas muestras, los resultados no son concluyentes, aunque en ellas aparecen picos que pueden ser asociados con arseniatos, su intensidad es muy baja para usarla como una prueba de su presencia. Adicional a esto, en las correlaciones de los EPT en la FG con los elementos mayores, se registró que el Pb en la FG con el Fe y S totales correlacionó fuertemente. Esto puede estar confirmando la presencia de minerales que tienen asociados Pb, Fe y S. El hecho de que el MATCH! 2 proporcione minerales de estos tres elementos debe ser lo esperado.

En la Sección 4.3.1.3 ya se realizó una comparación de este mismo par de muestras y se encontró que la mayor presencia de minerales de Fe poco cristalinos es la responsable de que la muestra SLP-05 presente mayores bioaccesibilidades que la SLP-02. Debe recordarse que esta comparación se realizó teniendo en cuenta las concentraciones tanto en la FG como en la FI para As, Pb y Fe, en donde también se pudo observar que en SLP-02, el As y el Fe se mantienen solubles en el paso de las condiciones gástricas a las intestinales, mientras que en SLP-05, el As y el Pb disminuyen su concentración considerablemente. Con esto se pudo agrupar a las muestras dependiendo del comportamiento de estos tres elementos. Las que presentan comportamiento similar a SLP-02 son SLP-01, 03, 04 y 08; mientras que las muestras que se comportan como SLP-05 son todas las de Taxco, SLP-06 y 07. A la muestra SLP-09, que corresponde a un residuo metalúrgico, no se le asignó un grupo debido a que ésta mostró un incremento significativo de la concentración de As al pasar de la FG a la FI.

Los oxohidróxidos de Fe poseen puntos de carga cero (*PZC*, por sus siglas en inglés), por lo general mayores que 7¹³⁹, por lo que si se tienen grandes cantidades de estos minerales en SLP-05 es de esperar que los arseniatos se adhieran a sus superficies cargadas positivamente al pH de la fase intestinal (pH = 7). La menor cantidad de minerales poco cristalinos de Fe en SLP-02 permite que los arseniatos se mantengan solubles en la FG; sin embargo, esto no explica por qué el Fe también se mantiene soluble al cambiar las condiciones de pH.

4.7. Bioaccesibilidad en la evaluación de riesgos

Tradicionalmente, los criterios para la evaluación y remediación de los sitios contaminados se han derivado del uso de las concentraciones basadas en las normas y en suponer que el 100% del contaminante es biodisponible. Sin embargo, los resultados encontrados por Juhasz *et al.* (2007a)⁹³ y en otros estudios *in vitro* claramente indican que la bioaccesibilidad de los contaminantes en los suelos son significativamente menores que el 100% y que dependen de una variedad de parámetros (pH del suelo, especiación del elemento, contenido de Fe y mineralogía, envejecimiento del suelo).

Por otra parte, la Agencia de Protección del Ambiente de los Estados Unidos (*US EPA*), ha estimado que el 30% del Pb al que están expuestos los niños es absorbido hacia el sistema circulatorio. Sin embargo, estudios recientes sugieren que la biodisponibilidad del Pb puede

depender de la forma y la solubilidad del Pb presente y de la geoquímica específica del sitio²⁰. La aplicación de un valor de biodisponibilidad de 30% podría no ser apropiado para todos los tipos de contaminación por Pb.

El comprender que no todo lo medido por la digestión completa es biodisponible ha llevado a los asesores de riesgo a usar una fracción (porcentaje) del total que representa mejor la biodisponibilidad en un cálculo de riesgo²⁴. Sin embargo, estudios realizados han determinado que la fracción biodisponible de Pb y As será aún más baja que la fracción bioaccesible de Pb y As, debido a la absorción incompleta del Pb y As solubilizado en el intestino delgado²⁰.

En la evaluación de riesgo establecido por la Norma Oficial Mexicana SEMARNAT 147⁸⁸, la concentración específica total (CE_T) se refiere a la masa de un elemento químico regulado por unidad de masa de suelo en estudio, que se calcula de manera particular para un suelo, por encima del cual se considera que existe un riesgo a la salud de los seres humanos en las condiciones ambientales de transporte y exposición específicas de un sitio⁸⁸.

Para determinar las concentraciones específicas totales en el sitio de estudio, el responsable debe llevar a cabo un estudio de evaluación de riesgo a la salud que, para el caso del Pb, la norma establece el uso de la evaluación de la bioaccesibilidad, conforme se establece a continuación, para calcular el valor de la CE_T aplicando la ecuación:

$$CE_T = \frac{CR_T}{BA} \quad (4.7.1)$$

donde CR_T es la concentración de referencia total señalada en la Tabla 4.7.2 (más abajo); BA es el factor de bioaccesibilidad o bioaccesibilidad relativa. Este factor de bioaccesibilidad se determina conforme al método establecido en la Norma Oficial Mexicana SEMARNAT 147, en la cual el método usado es una extracción con una solución de glicina ajustada a pH de 2 con HCl (37%) realizada a las partículas de suelo menores de 250 μm .

El objetivo de la expresión 4.7.1 es calcular una concentración total a partir de resultados de los porcentajes de bioaccesibilidad en un sitio, considerando a las concentraciones de la norma como las cantidades de EPT disueltas en la FG.

Un suelo requiere de acciones de remediación cuando las concentraciones iniciales totales (CI_T) de los elementos mencionados en la norma sean mayores a las concentraciones específicas totales ($CI_T > CE_T$). En el caso de $CI_T \leq CE_T$, no es necesario implementar acciones de remediación⁸⁸. La CI_T es la masa de un elemento químico regulado por unidad de masa de suelo⁸⁸, es decir, $CI_T = C_T$.

Del cálculo del factor de bioaccesibilidad se tiene que:

$$BA = \frac{C_F}{CI_T} \quad (4.7.2)$$

donde C_F es la concentración del elemento ya sea en la extracción en la FG o la FI según el método desarrollado por Ruby *et al.* (1993)¹⁵, la que se denomina concentración en la fase.

Se podría obtener una expresión en la que ya no sería necesario encontrar la CI_T porque en el caso de $CI_T \leq CE_T$ no se requiere remediación:

$$CI_T \leq CE_T \quad (4.7.3)$$

Remplazando la ecuación 4.7.1 en la ecuación 4.7.3:

$$CI_T \leq \frac{CR_T}{BA} \quad (4.7.4)$$

Si se ubica a la expresión 4.7.2 en 4.7.4:

$$CI_T \leq \frac{CR_T \cdot CI_T}{C_F}$$
$$1 \leq \frac{CR_T}{C_F}$$

Finalmente:

$$C_F \leq CR_T \quad (4.7.5)$$

Entonces puede verse que, para que un suelo no requiera acciones de remediación, la concentración en cualquiera de las fases tiene que ser menor o igual a la concentración de referencia. Contrariamente, se puede decir que una concentración mayor en la fase (gástrica o intestinal) que la concentración de referencia hace necesaria una remediación.

Sin embargo, una comparación entre estas dos concentraciones tampoco sería del todo correcta, ya que se sabe que de una concentración total, solamente una fracción de ésta puede disolverse, permanecer disuelta y ser posteriormente absorbida por el organismo. Por ello, es necesario un método alternativo para realizar una estimación más real del riesgo a la salud.

Pelfrene *et al.* (2011a)¹¹⁸ evaluó el riesgo a la salud asociado a la contaminación de EPT en suelos, basado en la estimación de la captación diaria para sus elementos de estudio y consideraron al suelo como la fuente de contaminación, la adhesión de partículas de suelo a las manos y las actividades mano boca como mecanismo de liberación, y la ingestión como la ruta de exposición. Los cálculos de exposición los realizaron para las condiciones que representaron el peor de los casos (relación de ingestión suelo de 200 mg día⁻¹). La evaluación de riesgo lo realizaron en base crónica (5 años de duración de la exposición)

mediante el cálculo de los valores del cociente de peligro (CP) para los EPT usando la dosis oral de referencia¹¹⁸.

Niños con edades entre 1 y 5 años fueron identificados como la población más sensible debido a su comportamiento y parámetros fisiológicos. La ingesta diaria estimada (IDE, mg kg⁻¹ día⁻¹) para EPT provenientes del suelo por la ingestión en niños fue calculada de acuerdo con la ecuación:

$$IDE = \frac{C_T \times RI \times FE \times DE \times FAR}{MC \times PT} \times 10^{-6} \quad (4.7.6)$$

donde, C_T es la concentración total del metal (mg kg⁻¹) en las partículas de suelo menores que 250 µm; RI es la relación de ingestión de suelo (200 mg día⁻¹); FE es la frecuencia de exposición (365 días año⁻¹); DE es la duración de la exposición (5 años); FAR es el factor de absorción relativa del suelo (para este caso es la bioaccesibilidad relativa); MC es el masa corporal promedio (15 kg para niños) y PT es el período de tiempo promedio (365 días x número de años de exposición, suponiendo que son 5 años para este estudio)^{104, 119}.

La relación de ingestión depende del estado físico del medio. En este caso son sólidos y la bibliografía ha reportado varios valores del mismo (37 a 207 mg día⁻¹¹²³; 350 mg día⁻¹¹⁴⁰; 50 a 500 mg día⁻¹¹³²; 1000 a 5000 mg día⁻¹¹⁴¹) que, a su vez, dependen de la edad, comportamiento, tamaño de partícula, etc.

Los valores de bioaccesibilidades absolutas de los EPT se introducen en la ecuación de cálculo en FAR. Por lo general, se supone que el 100% del metal ingerido por los niños es bioaccesible (en este caso FAR es igual a 1). Ésta es una suposición conservadora y que es comúnmente usada cuando no se disponen de los datos de bioaccesibilidad durante la evaluación del riesgo^{104, 119}. El cálculo de FAR proviene de la siguiente expresión:

$$FAR = \frac{\%BA}{100} \quad (4.7.7)$$

La ecuación para encontrar la bioaccesibilidad porcentual es:

$$\%BA = 100 \left(\frac{C_F}{C_T} \right) \quad (4.7.8)$$

Relacionando la ecuación 4.7.7 y 4.7.8 se tiene que:

$$FAR = \frac{C_F}{C_T} \quad (4.7.9)$$

Si se reemplaza la expresión 4.7.9 en 4.7.6, se puede observar que se obtiene una expresión que ya no requiere de la concentración total del elemento, sino únicamente la concentración absoluta en la fase (bioaccesible) (mg kg⁻¹) y es la que es útil:

$$IDE = \frac{RI \times FE \times DE \times C_F}{MC \times PT} \times 10^{-6} \quad (4.7.10)$$

Además, de la ecuación 4.7.10 se tiene que:

$$\frac{FE \times DE}{PT} = TE \quad (4.7.11)$$

donde TE es el tiempo de exposición y toma valores entre 0 y 1, siendo la unidad la expresión para el máximo tiempo de exposición. Canalejo (2011)¹⁴² proporciona valores de FE y DE (Tabla 4.7.1) con los que se pueden encontrar los valores de TE usando la ecuación 4.7.11, teniendo en cuenta que PT es igual a DE en días, para la evaluación de elementos que no producen cáncer. Los valores para una exposición media de la población (*MLE*, siglas en inglés) y la máxima exposición razonable (*RME*, siglas en inglés) corresponden a dos supuestos encontrados en la literatura con distinto grado de conservadurismo¹⁴², datos que se presentan en la Tabla 4.7.1.

Tabla 4.7.1. Factores de exposición estándar de la población¹⁴²

Vía de exposición	Exposición	RI mg día ⁻¹	FE días año ⁻¹	DE años	MC kg
Ingestión de partículas de suelo y polvo	Media (<i>MLE</i>)	50	250	4	70
	Máxima (<i>RME</i>)			25	

Usando la ecuación 4.7.11 se tiene que:

$$TE = \frac{FE \times DE}{DE \times 365 \frac{\text{días}}{\text{año}}}$$

$$TE = \frac{FE}{365 \frac{\text{días}}{\text{año}}} \quad (4.7.12)$$

De la ecuación 4.7.12, se observa que: los datos para DE en el caso de elementos no cancerígenos son innecesarios, que los valores de TE son los mismos para *MLE* y *RME* (TE = 0.685), y que los valores de TE dependen únicamente de la frecuencia de exposición. Con estos valores se pueden encontrar las IDE en función de la concentración para cada uno de los casos trabajados. Entonces, sustituyendo 4.7.11 en 4.7.10:

$$IDE = \frac{RI \times TE \times C_F}{MC} \times 10^{-6} \left(\frac{kg_{\text{suelo}}}{mg_{\text{suelo}}} \right) \quad (4.7.13)$$

Con las condiciones dadas para un niño de 5 años (TE = 1), puede calcularse la IDE como una función de C_F , de la siguiente manera:

$$IDE = \frac{200 \frac{mg_{suelo}}{día} \times 10^{-6} \frac{kg_{suelo}}{mg_{suelo}}}{15 kg_{MC}} \times C_F$$

$$IDE_N = \frac{C_F}{7.5 \times 10^4 \left(\frac{kg_{MC} \text{ día}}{kg_{suelo}} \right)} \quad (4.7.14)$$

Para una persona adulta con TE = 0.685:

$$IDE_A = \frac{50 \frac{mg_{suelo}}{día} \times 0.685 \times 10^{-6} \frac{kg_{suelo}}{mg_{suelo}}}{70 kg_{MC}} \times C_F$$

$$IDE_{Ad} = \frac{C_F}{2.044 \times 10^6 \left(\frac{kg_{MC} \text{ día}}{kg_{suelo}} \right)} \quad (4.8.15)$$

El riesgo asociado a la exposición crónica a los EPT de los suelos se evalúa por el cálculo del cociente de peligro (CP) siguiendo el método estándar de evaluación de riesgo^{104, 143}. El CP se define como la relación entre la IDE y la dosis de referencia (DRf). La dosis de referencia es el nivel de exposición diario de una población, durante toda la vida, para el que no existe un riesgo apreciable de efectos adversos, en la que están incluidas las subpoblaciones sensibles. Se han calculado diferentes valores de DRf, los cuales dependen de la vía de ingreso del elemento o compuesto tóxico, del período de exposición evaluado y del tipo de efecto observado¹⁴². En este trabajo se usaron los valores de DRf para exposiciones crónicas orales (Tabla 4.7.2). De este modo se tiene:

Tabla 4.7.2. Valores de las dosis de referencia (DRf) de las concentraciones de referencia en la fase (CFRef) y de las concentraciones de referencia totales para cada uno de los elementos de estudio

Elemento	DRf ^a mg kg ⁻¹ día ⁻¹	C _{FRef-N} ^b	C _{FRef-Ad} ^c mg kg ⁻¹	CR _T ^d
As	3x10 ⁻⁴	23	613	22
Cd	1x10 ⁻³	75	2044	37
Cu	4x10 ⁻²	3000	81760	----
Pb	4x10 ⁻³	300	8176	400
Zn	0.3	22500	613200	----

^a Los valores de DRf fueron tomados del “Manual de Evaluación para la Salud Humana” de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos^{58, 60, 65, 68, 69}

^b Valores calculados a partir de la ecuación 4.7.18

^c Calculados a partir de los valores de la Tabla 4.8.1, usando las ecuaciones 4.7.19

^d Valores de las CR_T proporcionados en la Norma Oficial Mexicana SEMARNAT 147⁸⁸

$$CP = \frac{IDE}{DRf} \quad (4.7.16)$$

Para niños, reemplazando 4.7.14 en 4.7.16, se tiene:

$$CP = \frac{C_F}{7.5 \times 10^4 \left(\frac{kg_{MC} \text{ día}}{kg_{suelo}} \right) \cdot DRf} \quad (4.7.17)$$

De la expresión 4.7.17, si $CP < 1$, la población expuesta es poco probable que experimente efectos adversos que sean evidentes. Sin embargo, si $CP > 1$, el contaminante puede producir efectos adversos. Aunque el método de evaluación de riesgo basado en el CP no proporciona una estimación cuantitativa de la probabilidad de una población expuesta a experimentar un efecto adverso en la salud, esta estimación sí proporciona un indicativo del nivel de riesgo debido a la exposición a un contaminante^{104, 118}. Adicionalmente, los valores de $CP < 1$ indican que la dosis ingerida de un metal no es igual a la dosis absorbida realmente^{104, 118}.

De acuerdo con la condición dada para que no exista riesgo, se pudo calcular la concentración máxima en la fase bioaccesible y con ello hacer una comparación más directa, de la siguiente manera:

$$1 > \frac{C_F}{7.5 \times 10^4 \left(\frac{kg_{MC} \text{ día}}{kg_{suelo}} \right) \cdot DRf}$$

$$7.5 \times 10^4 \left(\frac{kg_{MC} \text{ día}}{kg_{suelo}} \right) \cdot DRf > C_F \quad (4.7.18)$$

Si DRf para Pb es $4 \times 10^{-3} \text{ mg kg}^{-1} \text{ día}^{-1}$, se tiene que:

$$C_F < 7.5 \times 10^4 \frac{kg_{MC} \text{ día}}{kg_{suelo}} \cdot 4 \times 10^{-3} \frac{mg}{kg_{MC} \cdot \text{día}}$$

$$C_{F-N} < 300 \frac{mg}{kg}$$

Aplicando el mismo procedimiento desde 4.7.16 para el caso de un adulto, se tiene finalmente:

$$2.044 \times 10^6 \left(\frac{kg_{MC} \text{ día}}{kg_{suelo}} \right) \cdot DRf > C_F \quad (4.7.19)$$

$$C_{F-Ad} < 8176 \frac{mg}{kg}$$

A estos valores se les puede llamar concentraciones en la fase es estudio, gástrica y/o intestinal calculadas de referencia (C_{FRef}), para niños según los parámetros sugeridos por Pelfrene et al (2011a)¹¹⁸ (C_{FRef-N}), concentración de referencia para adultos ($C_{FRef-Ad}$); y los valores para cada elemento de este estudio se presentan en la Tabla 4.7.2, recordando que los valores que se han usado en el procedimiento de cálculo para C_{FRef-N} fueron ubicando los cálculos en el peor de los escenarios y, para $C_{FRef-Ad}$, según los factores estándar de la Tabla 4.7.1.

En este punto se tienen dos situaciones en las que no es necesario tomar medidas de remediación:

1. En la que la Norma Oficial Mexicana indica que:

$$C_F \leq CR_T$$

2. En la que la metodología seguida en el presente trabajo dice que:

$$C_F \leq C_{FRef}$$

Finalmente, la expresión general para el cálculo de las concentraciones de referencia es:

$$C_{Ref} = \frac{MC \times DRf}{RI \times TE} \times 10^6 \left(\frac{mg_{suelo}}{kg_{suelo}} \right) \quad (4.7.20)$$

En el cálculo de las concentraciones de referencia, uno de los factores que tienen mucha influencia es el tiempo de exposición. De la ecuación 4.7.20 pudo verse que una exposición diaria ($TE = 1$) para niños de 5 años con una ingesta de 200 mg de suelo diarios, los valores calculados de la C_{FRef-N} comparados con CR_T , resultaron ser muy similares para As; para Cd el valor de C_{FRef-N} fue el doble del que presenta la Norma Oficial Mexicana⁸⁸ y, en el caso del Pb, el dato de CR_T fue cien unidades mayor que C_{FRef-N} . Sin embargo, los valores de CR_T resultaron ser significativamente menores que los calculados para $C_{FRef-Ad}$. Esto ayuda a apreciar que la Norma Oficial Mexicana⁸⁸ es muy estricta en la evaluación de riesgos debido a la contaminación del suelo por As, Cd y Pb.

Debido a que la Norma Oficial Mexicana resulta más rigurosa en la evaluación, en comparación con los resultados a partir de los datos sugeridos por la *US EPA*, en adelante a las diferentes concentraciones de los EPT de estudio se compararán con las concentraciones de referencia de la Norma Oficial Mexicana y al caso extremo de un niño de 5 años.

La Figura 4.7.1 proporciona una mejor visión de la comparación de las concentraciones en las muestras y las concentraciones de referencia que se presentan en la Tabla 4.7.2.

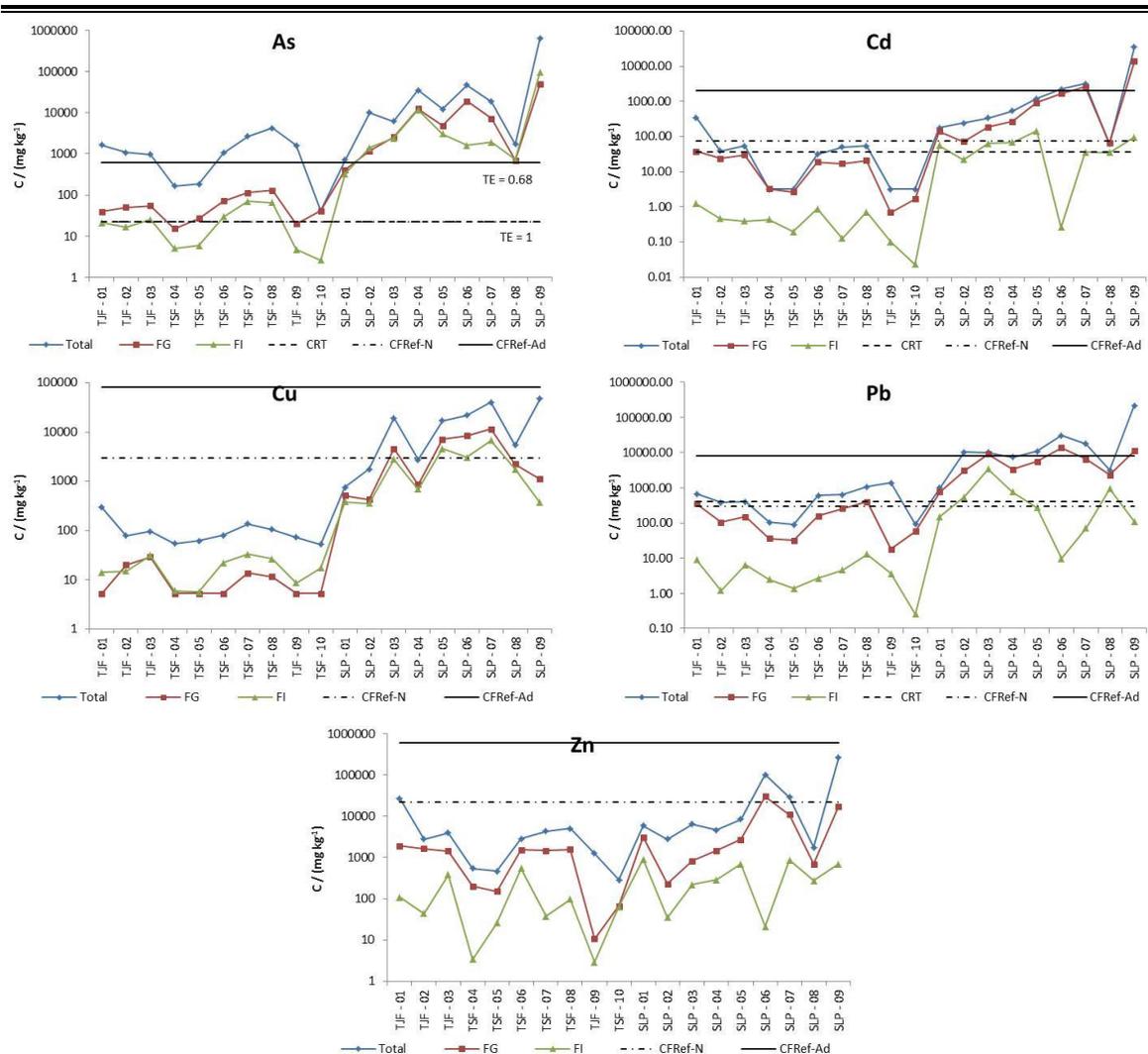


Figura 4.7.1. Comparación de las concentraciones totales de la fracción de suelo $< 250 \mu\text{m}$, de las concentraciones en la FG y en la FI, con las concentraciones de referencia calculadas de los elementos de estudio. Cu y Zn no presentan los valores de CR_T porque la Norma Oficial Mexicana SEMARNAT 147 no los considera

Como se ha mencionado en varias ocasiones, el uso de las concentraciones totales, sobrestima los valores reales que podrían provocar efectos nocivos en la salud humana. Una estimación más real se tiene al comparar las concentraciones de referencia totales con las concentraciones de los EPT que se disolvieron en la FG y la que permanece disuelta en la FI. Pudo verse que al usar las concentraciones en la FG, la mayoría de las muestras se ubicaron sobre el límite establecido para CR_T de As, con excepción de una muestra que se ubicó en el límite $\pm 20\%$ (TSF-09). Para Cd, las muestras de Taxco se ubicaron bajo el límite de CR_T ; sin embargo, dos de ellas están ubicadas justo en el límite $\pm 20\%$ (TJF-01 y TJF-03). Por otra parte, todas las muestras de SLP mostraron concentraciones de Cd mayores a CR_T . El caso para Pb se mostró similar al de Cd, pero sólo se vio que una

muestra de Taxco se ubicó en el límite de $\pm 20\%$ (TSF-08). Resumiendo, al comparar las concentraciones promedio en la FG con la CR_T , se encontró que en Taxco son de preocupación las altas concentraciones de As, pero Cd y Pb pasan la prueba, mientras que en SLP se observó necesaria la remediación por la alta concentración de As, Cd y Pb en este sector.

Se sabe que de la cantidad total del elemento que se disuelve en el medio ácido estomacal, solamente una parte de ésta es la que se mantiene disuelta en la FI debido al incremento del pH a 7. Por ello si se comparan las concentraciones en la FI con las CR_T , se tiene que, en el caso del As, cinco muestras se ubicaron bajo el límite, dos en el límite ($\pm 20\%$) y tres sobre él, mientras que en SLP todas las muestras resultaron en concentraciones por sobre el límite de la norma. Con Cd y Pb no se encontraron problemas en Taxco pero en SLP, para Cd, dos muestras estuvieron en el límite y dos estuvieron bajas, el resto tuvieron concentraciones superiores a CR_T para este elemento y, en el caso de Pb, cuatro muestras resultaron en concentraciones menores que CR_T .

Con esto puede decirse que en Taxco se requiere de acciones de remediación para As, mientras que en SLP es necesario remediar para todos los elementos, poniendo de manifiesto la alta disponibilización de EPT que ocurre con las actividades metalúrgicas.

4.8. Resumen general de los resultados

Del trabajo realizado se puede realizar el siguiente resumen general, en el que se tomaron en cuenta las metas planteadas. Así, de los parámetros físico-químicos determinados pudo verificarse que existe una gran variabilidad en las muestras, tanto de Taxco como de SLP. En ambos sitios la CIC y el contenido granulométrico de arcillas fueron muy bajos. Los jales y suelos contaminados por éstos en Taxco mostraron valores de pH ligeramente mayores que 7 debido a la presencia, en gran proporción, de minerales de $CaCO_3$ como la calcita. Mientras, en SLP, los suelos fueron ligeramente ácidos. Los contenidos de Fe y S en los jales fueron muy superiores a los de suelos en Taxco en el mismo sector, mientras que en SLP, el Fe presentó concentraciones similares a los suelos de Taxco y el S tuvo un comportamiento muy variable.

Las concentraciones totales de los EPT tuvieron el siguiente incremento general: suelos Taxco < jales Taxco < suelos SLP. Esto pone de manifiesto la mayor concentración de EPT que resulta de la actividad metalúrgica en comparación con la minera. Los suelos generalmente presentan menores concentraciones de EPT que los residuos contaminantes debido a la evidente dilución de éstos en la matriz mineral de los suelos. Las concentraciones totales de EPT para los suelos y jales de Taxco siguen la secuencia: Zn > As > Pb > Cu > o \approx (respectivamente) Cd. En SLP el As tuvo mayor concentración que el Zn y los demás elementos siguen el mismo orden que los suelos de Taxco.

En general, las concentraciones de los cationes metálicos en la FG fueron muy superiores a las de FI, presumiblemente por su precipitación al elevar el pH e introducir carbonatos al sistema (aunque no se descarta la contribución de fenómenos de sorción que sigue un comportamiento similar con el pH); excepto para Cu, que mostró un comportamiento variable, probablemente por el efecto disolvente de los fuertes complejos orgánicos de este catión metálico. El As mostró también un comportamiento muy variable que pone de manifiesto la mayor complejidad de su geoquímica acuosa en dependencia de factores más variados.

Las concentraciones determinadas de los EPT fueron menos variables en la FG que en la FI, siendo para ambas las concentraciones en SLP mayores a las encontradas en Taxco. Esta mayor variabilidad en la FI se debe principalmente al reto analítico que implica determinar concentraciones acuosas bajas en una matriz compleja. Se encontró una muy alta correlación lineal entre la concentración total de todos los EPT y sus bioaccesibilidades, especialmente en la FG, en suelos de SLP. Esto indica (1) que el tiempo de extracción no es suficiente para llegar a un equilibrio completo de solubilidad y, por tanto, probablemente la cinética de disolución está directamente ligada a la concentración total; y (2) es correcto usar el concepto de bioaccesibilidad relativa (Ecuación 4.7.8), siempre que la ordenada al origen de dichas correlaciones lineales sea cercana a cero, y este %BAG corresponderá a la pendiente de la recta multiplicada por 100. En el caso de jales y suelos de Taxco, casi no se presentaron correlaciones lineales entre FG y contenidos totales, lo que indica que la cinética de disolución del tipo de minerales presentes, al disolverse muy poco, no está linealmente relacionada con su contenido total. En este caso, NO es correcto utilizar la %BAG.

Se encontraron correlaciones altamente lineales entre las extracciones con HCl a pH = 2 y las de la FG, para todos los EPT en SLP (r entre 0.990 y 0.999, excepto Pb $r = 0.915$) y para Cd y As en Taxco ($r > 0.956$). Esto pone de manifiesto el papel preponderante del HCl en el método de extracción de FG. Sin embargo, a concentraciones bajas y/o en presencia de minerales menos oxidados, esta correlación no se encontró (para los otros EPT en Taxco), aunque no se descartan problemas por errores analíticos importantes a estas bajas concentraciones. La única correlación significativa que se encontró entre la extracción con HCl y la FI fue con el Cu. Se especula que las muy altas correlaciones lineales encontradas entre las concentraciones de las extracciones con HCl a pH = 2 y la FG se deben a la utilización de filtros de poro muy pequeño (0.05 μm) en comparación con los empleados normalmente de 0.45 μm y, por tanto, a la consecución de una separación adecuada entre fase disuelta y fase sólida. Esta separación correcta en el laboratorio es muy importante, pues simula mejor los procesos que se esperan en los órganos digestivos, los cuales funcionan como filtros muy efectivos de partículas e incluso moléculas grandes, evitando su paso al torrente sanguíneo.

Los estudios mineralógicos no fueron concluyentes para explicar diferencias importantes en la bioaccesibilidad de las muestras; sin embargo, se pudo determinar indirectamente que el control de la solubilidad de los EPT depende, por lo menos en parte, de la cantidad de minerales de Fe amorfo, siendo el indicativo de esto el hecho de tener dos muestras con cantidades totales similares de Fe y Pb (SLP-02 y SLP-05), resultando en bioaccesibilidades de Pb diferentes en la FG y la FI (SLP-02 < SLP-05 en la FG y SLP-02 > SLP-05 en la FI), indicando que el sitio con mayor contenido de minerales amorfos de Fe resultan en valores de bioaccesibilidad en la FI más bajos.

En la evaluación de los riesgos asociados a la presencia de EPT en los sitios de estudio, se encontró una expresión en la que la transformación de los resultados de bioaccesibilidad absoluta en la FG a porcentajes de bioaccesibilidad (%BAG) ya no es necesaria, estableciéndose que $C_F < CR_T$ para la Norma Oficial Mexicana, siendo C_F la concentración en la FG según el método *PBET* y CR_T la concentración específica total cuyos valores se presentaron en la Tabla 4.7.2. Además, se encontró que las concentraciones en la FG de referencia se pueden calcular usando la Ecuación 4.7.20. Al usar los parámetros sugeridos por la *US EPA* para evaluar el riesgos a manifestar algún efecto nocivo por la exposición a estos sitios, se pudo observar que las concentraciones de referencia de la Norma Oficial Mexicana (CR_T) son más exigentes que las encontradas al usar los parámetros establecidos por la *US EPA* ($C_{FRef-Ad}$) y que son muy similares a las encontradas si se considera el peor de los casos para un niño de 5 años (C_{FRef-N}) (Tabla 4.7.2) y sugiriendo que valores superiores a 3000 y 22500 mg kg⁻¹ (0.3 y 2.25 % en masa) para Cu y Zn, respectivamente, pueden producir efectos adversos en la salud humana debido a una exposición crónica.

Se usaron los valores de concentraciones de referencia que se encuentran en la Norma Oficial Mexicana⁸⁸ para evaluar la necesidad de remediación de un sitio. Pudo encontrarse que, al tomar en cuenta la CR_T , Cd y Pb, en SLP y, el As en los dos sitios, es necesario realizar acciones de remediación. En Taxco, para Cd y Pb, se sugieren estudios en muestras adicionales para tomar una mejor decisión. Adicionalmente, en Taxco se pudo evidenciar que los suelos ubicados en la parte más baja de la pendiente que forma el jal, presentan las más altas concentraciones, indicando que el arrastre del material por acción del agua de lluvia y los vientos están contaminando a los suelos que se encuentran en esta área. De la evaluación del riesgo se puede llegar a la conclusión, usando las concentraciones de los EPT solubles en FG y con las concentraciones en la FG calculadas a partir de las extracciones simples con HCl a pH = 2, de que el usar las concentraciones totales determinadas en la fracción de muestra con la que se evalúa la bioaccesibilidad resulta en una sobre-estimación de los datos, indicando la necesidad de remediación para todos los EPT que se tomaron en cuenta en este estudio.

5. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

5.1. Conclusiones

- Se determinaron las bioaccesibilidades (*in vitro*) de los elementos As, Cd, Cu, Pb, y Zn, de las muestras de jales y suelos contaminados por los jales de Taxco y de las muestras de suelos contaminados con residuos de la industria metalúrgica en San Luis Potosí. En general, las bioaccesibilidades absolutas mostraron correlaciones lineales positivas con su contenido total en SLP, pero no así en Taxco, confirmando que el concepto de bioaccesibilidad relativa es adecuado para SLP y no adecuado para Taxco. No se pudieron correlacionar las bioaccesibilidades encontradas con las propiedades fisicoquímicas de las muestras recolectadas. Tampoco fue posible determinar la mineralogía en que residen los EPT estudiados; sin embargo, con el uso del programa MATCH 2! pudo evidenciarse la presencia de asociaciones mineralógicas entre As, Pb, Fe y S. Por otro lado, se pudo determinar de manera indirecta que, en SLP, la presencia de minerales de Fe de baja cristalinidad son los que controlan en mayor extensión la movilidad de los EPT a través de procesos de sorción/desorción.
- Respecto del segundo objetivo propuesto en esta investigación, pudo encontrarse que la extracción con HCl a pH = 2 por 30 min registró muy buenas correlaciones con las bioaccesibilidad en la FG para todos los EPT en SLP (r entre 0.990 y 0.999, excepto Pb r = 0.915). Para Cd y As en Taxco fue de $r > 0.956$. Esto pone de manifiesto el papel preponderante del HCl en el método de extracción de la FG. Sin embargo, a concentraciones bajas y/o en presencia de minerales menos oxidados, no se encontró correlación (para los otros EPT en Taxco), aunque no se descartan problemas por errores analíticos importantes debido a las bajas concentraciones de las muestras de esta localidad en comparación con las de SLP. La relativa sencillez del método de extracción con HCl a pH 2 y su muy alta correlación con la FG, permite predecir con mucha exactitud la bioaccesibilidad en la FG de un suelo contaminado de acuerdo con el método *PBET*. A su vez, a través de su correlación con la biodisponibilidad en mamíferos, permite calcular la biodisponibilidad real de los EPT. Aparentemente, la limitación para que este tren de cálculos funcione adecuadamente es que los contaminantes estén en sus estados más altos de oxidación en el ambiente.

5.2. Perspectivas

Lo que se espera con el trabajo presentado, es el poder sugerir un método con el que análisis de rutina de la bioaccesibilidad, principalmente en la FG, puedan ser realizados de una manera más rápida y menos costosa. Con ello no se pretende sustituir los ensayos según el método *PBET* desarrollado, sino que dicho método desarrollado por Ruby *et al.* (1993)¹⁵ pueda ser dirigido a muestras que, luego de ser aplicada una extracción con HCl a pH = 2, se considere que es necesaria una especial atención, como sucedería en los casos en los que las bioaccesibilidades absolutas en la FG determinadas por extracción con HCl, se

encuentren muy cercanos a los valores de referencia presentados en la Norma Oficial Mexicana⁸⁸ (CR_T, Tabla 4.7.2).

Así mismo, se sugiere el uso de los valores de la CR_T para As, Cd y Pb en las evaluaciones de riesgo (según la Norma Oficial Mexicana⁸⁸) al compararlos directamente con las concentraciones (en miligramos por kilogramo de suelo) determinadas en la FG según el método *PBET* o indirectamente con extracciones con HCl a pH =2.

Pese a que las biodisponibilidades *in vivo* pueden ser predichas con el uso de las ecuaciones de la Tabla 4.3.2 para As, Cd y Pb a partir de los datos de bioaccesibilidad, los valores que así se obtengan pueden resultar en cantidades menores al del estudio *in vivo* original, debido a que los valores que se usaron en la modelación de estas ecuaciones probablemente son mayores a los presentados en este estudio, porque el tamaño de poro de las membranas de filtrado utilizadas pueden incidir de manera importante en los valores de bioaccesibilidad. Por ello la sugerencia en este aspecto es el estudio de cómo se ven afectadas las medidas de bioaccesibilidad en la FG y la FI al usar filtros de 0.45 y 0.05 µm.

6. ANEXOS

6.1. Método de extracción secuencial con HCl 0.1 mol L⁻¹

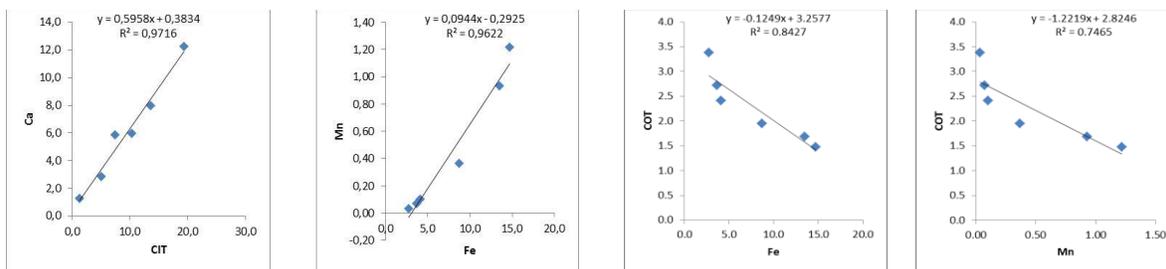
Procedimiento de extracción secuencial descrito por Sparks (1996)⁸⁵:

Agregar 20 mL de HCl 0.1 mol L⁻¹ a 2 g de suelo preparado en un tubo plástico de centrífuga de 50 mL. Agitar por 5 min en un agitador horizontal a 180 ciclos min⁻¹. Centrifugar hasta obtener un sobrenadante claro y transferirlo a un matraz aforado de 100 mL. Repetir el proceso de extracción dos o más veces hasta que el pH de la solución sea menor que 2.0, agregando el sobrenadante a matraz de aforo cada vez. Diluir el contenido del frasco hasta el volumen de aforo y mezclar. Analizar la solución para Ni, Cd y/o Pb. Los resultados en miligramos por kilogramo de suelo son iguales a la concentración del metal en la solución en miligramos por litro multiplicado por 50 (relación solución:suelo).

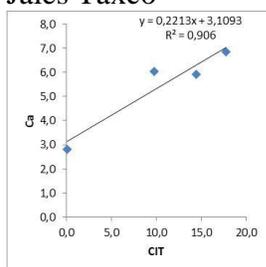
6.2. Gráficos de las correlaciones encontradas

Figura 6.2.1. Correlaciones entre los parámetros físico-químicos

Suelos Taxco



Jales Taxco



Suelos SLP

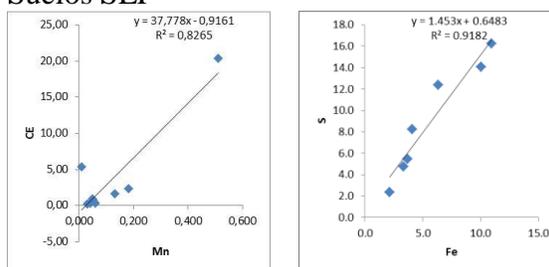
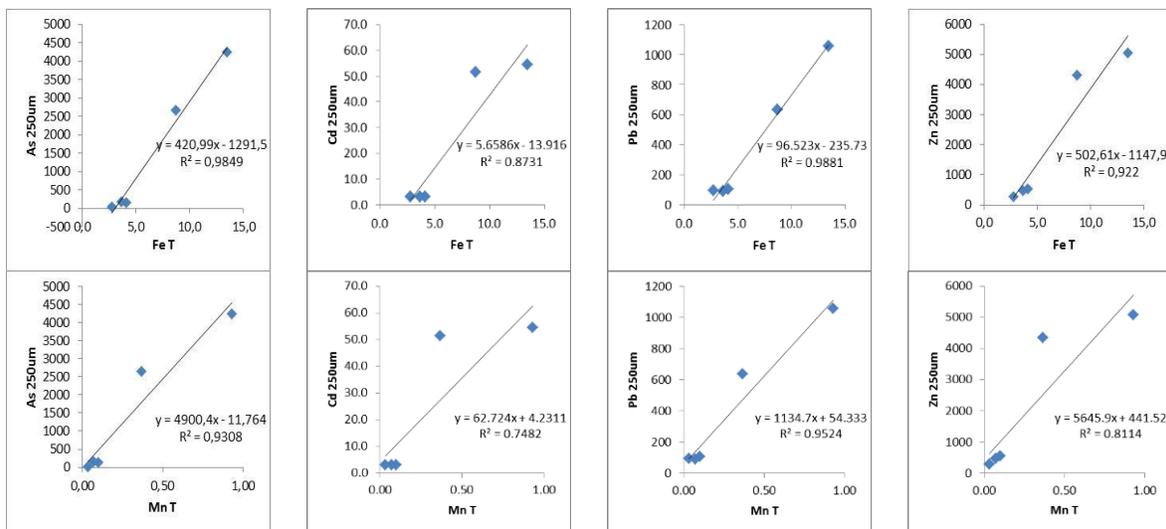
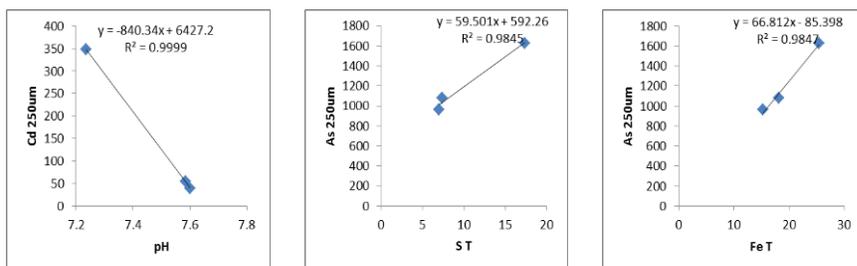


Figura 6.2.2. Correlaciones entre las concentraciones totales de los EPT en las partículas < 250 µm y los parámetros físico-químicos

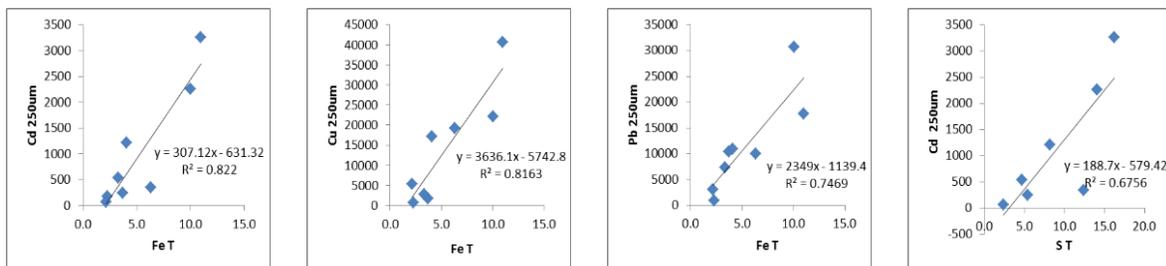
Suelos Taxco



Jales Taxco



Suelos SLP



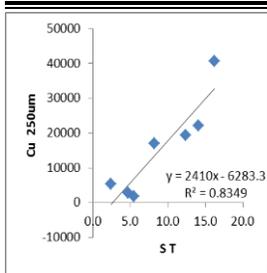
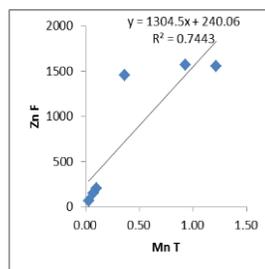
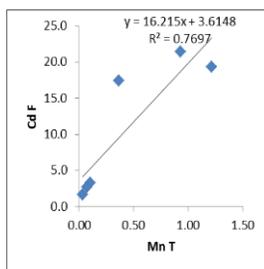
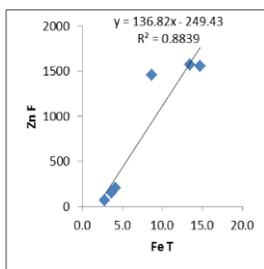
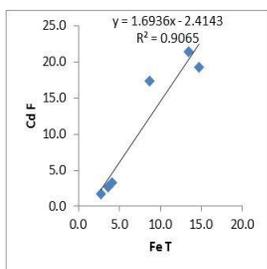
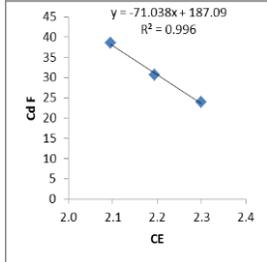
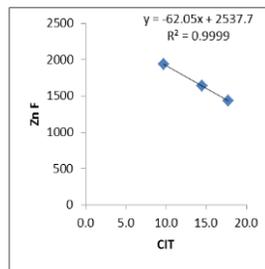
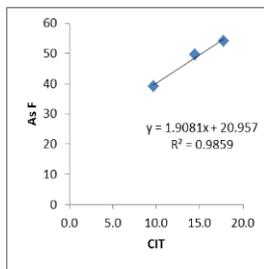
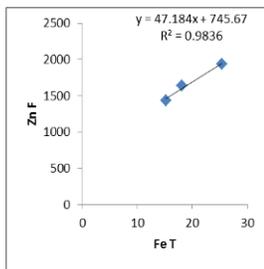
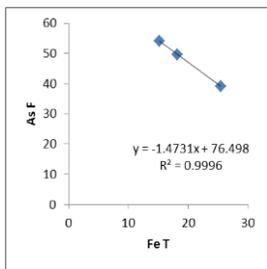


Figura 6.2.3. Correlaciones entre las concentraciones en la FG de los EPT de estudio y los parámetros físico-químicos

Suelos Taxco



Jales Taxco



Suelos SLP

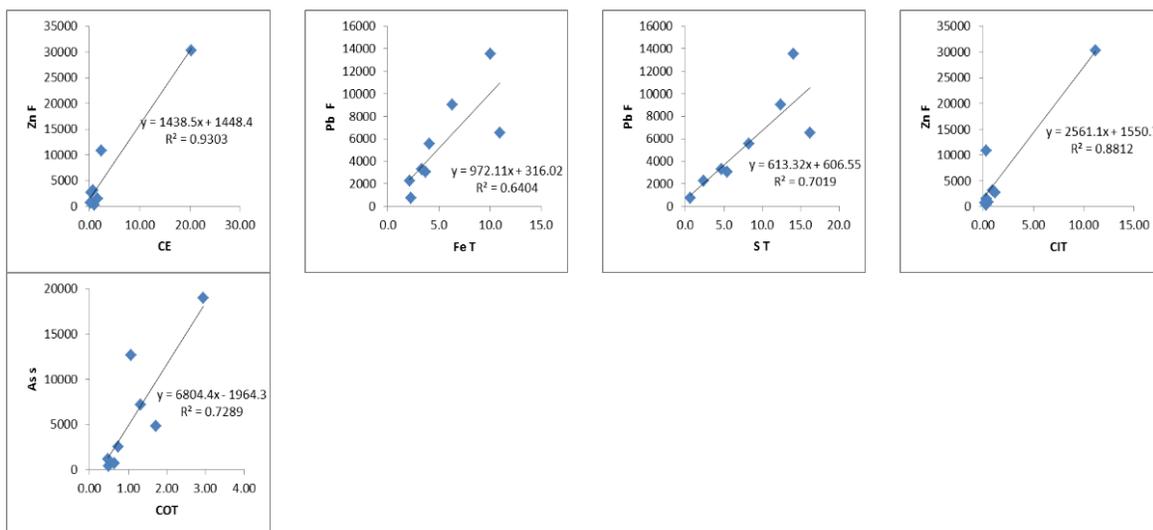
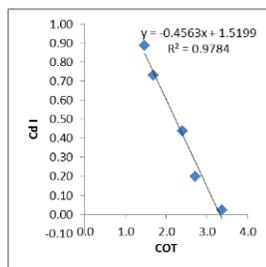
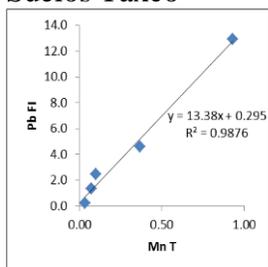


Figura 6.2.4. Correlaciones entre las concentraciones en la FI de los EPT de estudio y los parámetros físico-químicos

Suelos Taxco



Jales Taxco

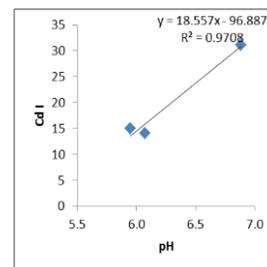
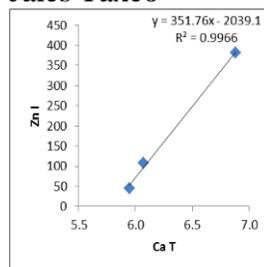
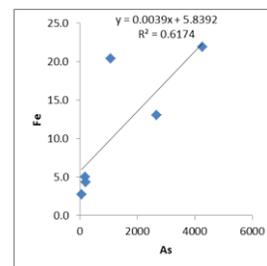
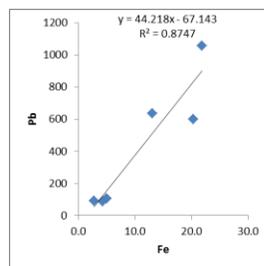
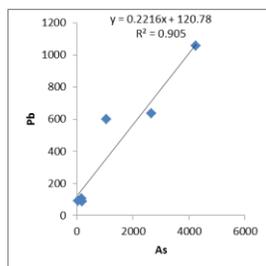
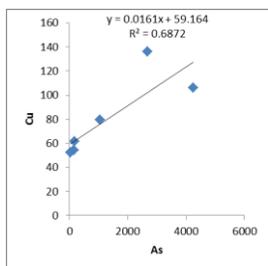
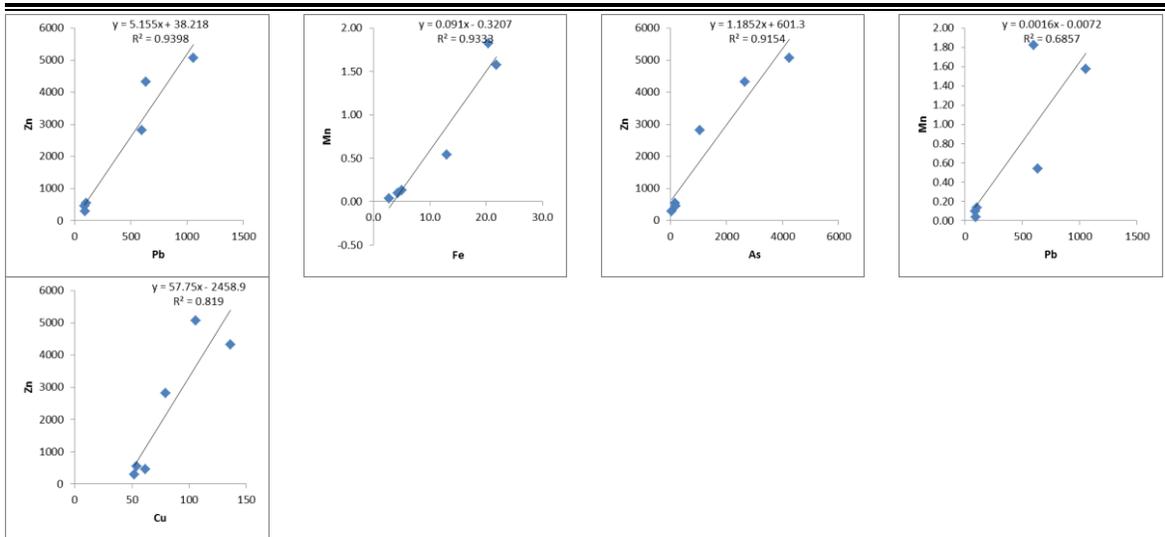


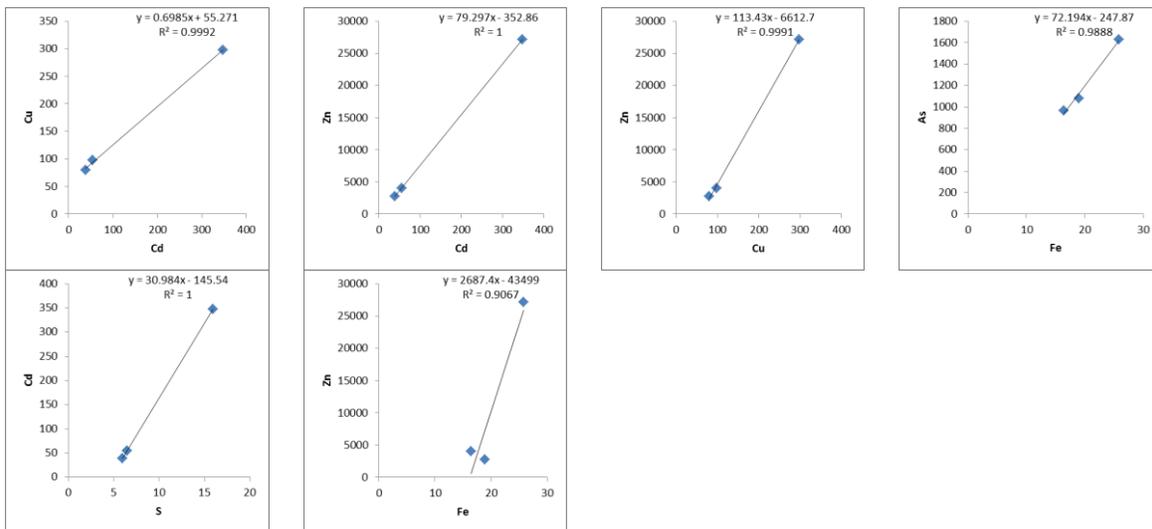
Figura 6.2.5. Correlaciones entre las concentraciones de los EPT en las partículas $< 250 \mu\text{m}$

Suelos Taxco





Jales Taxco



Suelos SLP

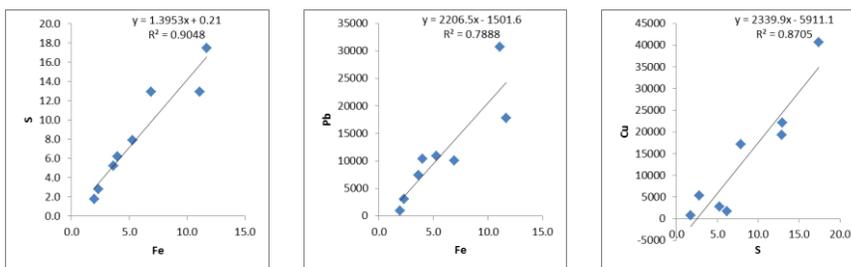
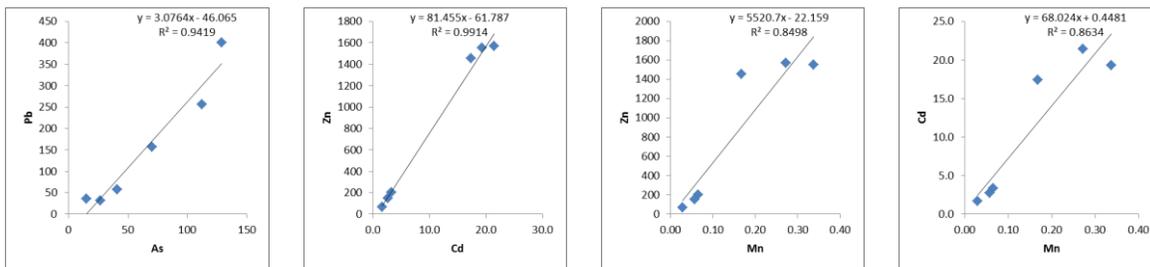
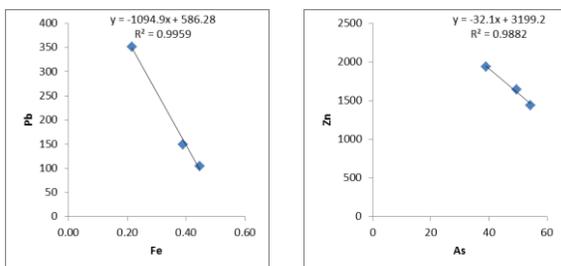


Figura 6.2.6. Correlaciones entre las concentraciones de EPT en la FG

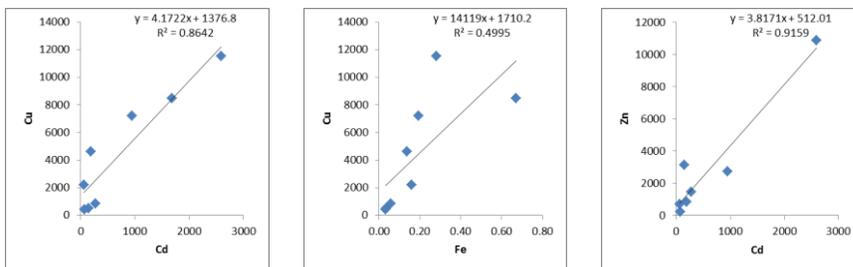
Suelos Taxco



Jales Taxco



Suelos SLP



6.3. Parámetros de regresión lineal

Tabla 6.3.1. Parámetros de regresión lineal de las comparaciones entre las concentraciones en la FI con las extracciones con HCl a pH = 2

Parámetro	As	Cd	Cu	Pb	Zn
General					
r	0.932	0.422	0.966	0.364	0.041
m	1.33	0.00	0.65	0.08	0.00
b	-1693	22	70	170	274
San Luis Potosí					
r	0.929	0.258	0.945	0.143	-0.245
m	1.39	0.00	0.63	0.03	0.00
b	-4365	53	212	549	493
Taxco General					
r	0.896	0.635	0.607	0.686	0.479
m	2.06	0.02	0.59	0.05	0.12
b	0.9	0.2	10	0.9	36

La ecuación de la regresión lineal es $FI = mC + b$, donde, FI es la concentración en la FI; C es la concentración en la extracción con HCl a $pH \approx 2$; m es la pendiente de la recta y b es la intersección con el eje de las ordenadas

Tabla 6.3.2. Parámetros de regresión lineal de las comparaciones entre las concentraciones en la FG con las extracciones con NH_4OAc 1 mol L^{-1}

Parámetro	As	Cd	Cu	Pb	Zn
General					
r	0.926	0.965	0.957	0.346	0.960
m	2.49	16.42	11.89	12.74	15.39
b	2325	-183	6.4	2174	28
San Luis Potosí					
r	0.937	0.963	0.930	-0.168	0.958
m	2.32	16.96	11.88	-5.28	16.35
b	5259	-461	9.4	6844	-1092
Taxco General					
r	0.914	0.858	0.443	0.614	0.584
m	54.70	5.97	7.80	83.96	10.34
b	34	7.3	7.1	109	717

La ecuación de la regresión lineal es $\text{FG} = \text{mA} + \text{b}$ donde, FG es la concentración en la FG; A es la concentración en la extracción con NH_4OAc 1 mol L^{-1} ; m es la pendiente de la recta y b es la intersección con el eje de las ordenadas

Tabla 6.3.3. Parámetros de regresión lineal de las comparaciones entre las concentraciones en la FI con las extracciones con NH_4OAc 1 mol L^{-1}

Parámetro	As	Cd	Cu	Pb	Zn
General					
r	0.747	0.507	0.925	0.633	0.305
m	7.03	0.11	6.36	4.38	0.20
b	364	20	64	51	226
San Luis Potosí					
r	0.653	0.318	0.877	0.510	0.042
m	6.10	0.05	6.16	3.95	0.02
b	1073	50	188	162	431
Taxco General					
r	0.615	0.639	0.284	0.473	0.065
m	103	0.13	6.04	1.87	0.27
b	2.8	0.3	15	3.4	123

La ecuación de la regresión lineal es $\text{FI} = mA + b$, donde, FI es la concentración en la FI; A es la concentración en la extracción con NH_4OAc 1 mol L^{-1} ; m es la pendiente de la recta y b es la intersección con el eje de las ordenadas

6.4. Comparación entre las concentraciones totales de EPT en dos tamaños de partícula (250 µm vs 2 mm)

Las muestras originales tamizadas por malla de 2 mm de abertura, se molieron y analizaron por FRX con la finalidad de establecer diferencias entre la muestra original y la fracción que se usa en la determinación de la bioaccesibilidad (partículas menores a 250 µm).

La Tabla 6.4.1 proporciona los resultados obtenidos para los mismos elementos analizados en las muestras de 250 µm con los que se realizó la comparación y la Tabla 6.4.2 muestra los valores de los parámetros de las rectas de regresión de la comparación de las concentraciones de los elementos en los dos tamaños de partícula evaluados.

Tabla 6.4.2. Parámetros estadísticos de regresión lineal entre los tamaños de partícula < 2 mm y < 250 µm, calculados para las concentraciones de los elementos analizados por FRX de manera general y para cada sitio de estudio

Parámetro	Ca	Fe	Mn	S	As	Cd	Cu	Pb	Zn
General									
r	0.99	1.0	0.96	0.99	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
m	0.93	1.1	1.3	0.90	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
b	-0.07	0.31	-0.02	0.67	937	6.0	245	633	253
Taxco									
r	0.98	0.94	0.95	0.96	0.93	1.0	0.99	0.96	1.0
m	0.98	1.1	1.3	0.73	1.4	1.1	0.94	1.1	1.1
b	-0.42	1.8	0.0063	1.1	-100	0.0056	13	43	165
San Luis Potosí									
r	0.99	0.99	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
m	0.91	1.1	1.0	0.93	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
b	0.055	0.047	-0.001	0.91	1727	6.2	799	1397	100

Los análisis de regresión con los dos tamaños de partícula permiten observar que las dos localidades presentan coeficientes de correlación que no difieren estadísticamente del valor ideal ($r = 1$) en todos los elementos cuantificados.

Los valores calculados para la pendiente de la recta de regresión tampoco presentan diferencias significativas del valor establecido como ideal para este parámetro ($m = 1$), siendo la excepción el valor de pendiente calculada para Mn en Taxco, de 1.3.

Tabla 6.4.1. Concentraciones totales de elementos en las muestras originales recolectadas de Taxco y San Luis Potosí tamizadas para obtener partículas menores a los 2 mm (muestra original) analizadas por FRX. Entre paréntesis se muestran las desviaciones estándar de las mediciones

Muestra	Ca	Fe	Mn	S	As	Cd	Cu	Pb	Zn
	% en masa (S)				mg kg ⁻¹ (S)				
Taxco									
TJF-01	6.1 (0.25)	25 (1.1)	0.98 (0.067)	17 (1.5)	1838 (46)	312 (23)	304 (32)	646 (39)	25049 (890)
TJF-02	5.9 (0.029)	18 (0.090)	1.1 (0.024)	7.4 (0.41)	1033 (22)	41 (3.3)	73 (0.69)	364 (6.6)	2733 (97)
TJF-03	6.9 (0.088)	15 (0.025)	0.95 (0.016)	7.0 (0.34)	924 (24)	65 (6.3)	96 (7.6)	461 (2.1)	3953 (29)
TSF-04	1.3 (0.076)	4.1 (0.068)	0.10 (0.008)	< 0.6	77 (8.2)	< 3.2	60 (4.9)	86 (11)	344 (19)
TSF-05	5.9 (0.042)	3.7 (0.086)	0.072 (0.010)	< 0.6	73 (12)	< 3.2	49 (3.9)	46 (5.9)	361 (190)
TSF-06	2.8 (0.15)	15 (0.61)	1.2 (0.061)	< 0.6	739 (44)	23 (3.0)	68 (6.2)	454 (25)	2436 (197)
TSF-07	8.0 (0.32)	8.7 (0.41)	0.37 (0.009)	4.4 (0.63)	1472 (166)	42 (4.8)	119 (20)	416 (18)	3652 (493)
TSF-08	6.0 (0.20)	13 (0.77)	0.93 (0.068)	3.2 (0.26)	2554 (352)	39 (7.0)	97 (23)	682 (6.9)	3934 (355)
TJF-09	2.8 (0.054)	20 (1.2)	0.096 (0.015)	18 (1.1)	1477 (86)	< 3.2	< 42.7	1288 (32)	851 (21)
TSF-10	12 (0.24)	2.8 (0.028)	0.034 (0.005)	< 0.6	25 (4.4)	< 3.2	55 (8.0)	84 (8.9)	256 (8.4)
San Luis Potosí									
SLP-01	0.50 (0.008)	2.3 (0.033)	0.054 (0.002)	< 0.6	852 (12)	208 (4.1)	1057 (32)	1233 (19)	7006 (171)
SLP-02	0.48 (0.005)	3.7 (0.14)	0.051 (0.003)	5.5 (0.18)	8492 (190)	188 (2.8)	1446 (59)	8419 (178)	2100 (109)
SLP-03	0.74 (0.030)	6.3 (0.12)	0.042 (0.005)	12 (0.94)	5808 (61)	325 (14)	19456 (747)	9314 (156)	5867 (464)
SLP-04	1.1 (0.026)	3.3 (0.038)	0.13 (0.004)	4.7 (0.54)	29304 (303)	441 (11)	2134 (45)	5940 (77)	3720 (110)
SLP-05	1.7 (0.12)	4.1 (0.47)	0.060 (0.008)	8.2 (0.64)	9337 (1331)	967 (97)	12379 (1994)	7624 (988)	6378 (1014)
SLP-06	2.9 (0.014)	10 (0.17)	0.51 (0.027)	14 (0.86)	43122 (718)	1866 (82)	20384 (350)	29905 (1316)	94535 (2920)
SLP-07	1.3 (0.027)	11 (0.43)	0.18 (0.012)	16 (0.71)	19499 (813)	4047 (106)	40006 (1535)	15328 (615)	33817 (1797)
SLP-08	0.64 (0.028)	2.1 (0.064)	0.031 (0.001)	2.4 (0.087)	1447 (27)	92 (6.0)	4830 (193)	2584 (74)	1511 (59)
SLP-09	0.82 (0.034)	7.7 (0.36)	< 0.01	42 (1.2)	631618 (15123)	35669 (1786)	45779 (1538)	216452 (3578)	259051 (8422)

Los valores que se observan junto a < corresponden al límite de detección del equipo para el elemento

En referencia con la intersección con el eje de las ordenadas puede verse que en Taxco los únicos elementos que no mostraron diferencias significativa de cero son Mn y Cd, pero esto puede deberse a las bajas concentraciones de estos elementos en el sitio. En SLP no se registraron diferencias significativas de cero para Ca, Fe y Mn.

Como conclusión puede decirse que en Taxco los únicos datos que no presentaron diferencias en los dos tamaños de partícula analizados fueron los registrados para Cd y para SLP los de Ca, Fe y Mn; ya que estos elementos en cada una de sus localidades cumplieron con todas las condiciones de idealidad de una regresión lineal.

El resto de elementos en las dos localidades pese a tener coeficientes de correlación y pendientes que no son diferentes de uno, sus diferencias significativas de cero (positivas) con la ordenada al origen, indican que la fracción de menor tamaño de partícula registra mayores concentraciones. Esto concuerda con estudios realizados en los que se reporta que al disminuir el tamaño de partícula se observa un incremento en la concentración de los elementos analizados^{95, 115, 122, 126} puesto que los EPT tienden a presentarse en minerales de menor tamaño.

Meunier *et al.* (2011a)⁹⁵ encontraron que esta diferencia entre los dos tamaños de partícula evaluados puede ser debido a la presencia de grandes proporciones de granos finos en una muestra conteniendo EPT, la que puede influenciar en el resultado de la bioaccesibilidad de un elemento.

Para comprobarlo se seleccionaron ocho muestras (cuatro de cada localidad) a las que se determinó el porcentaje en masa de la fracción que fue tamizada por malla con tamaño de abertura de 250 μm y la que fue retenida por el tamiz.

Las fracciones de muestra retenidas en el tamiz fueron molidas y analizadas por FRX. El cálculo de la contribución se determinó teniendo en cuenta la siguiente expresión:

$$C_T = (f_{60}C_{60}) + (f_{\phi > 60}C_{\phi > 60}) \quad (6.4.1)$$

donde, f_{60} y $f_{\phi > 60}$ son las fracciones absolutas en masa de las fracciones que pasaron por malla 60 y las que se retuvieron en la malla, respectivamente; C_{60} y $C_{\phi > 60}$ son las concentraciones de metal en las fracciones anteriormente indicadas.

Los resultados del cálculo de la contribución de la concentración de cada fracción a la concentración total se presentan en la Tabla 6.4.3 (calculados a partir de la Ecuación 6.4.1). Puede observarse que para la mayoría de las muestras la mayor contribución a la concentración total es debida a la fracción de tamaño de partícula menor que 250 μm . Las excepciones a esto se marcaron en la Tabla 6.4.3 y probablemente se dan debido al encapsulamiento del elemento analizado en las partículas de mayor tamaño.

Tabla 6.4.3. Contribución de las concentraciones al contenido total de cada elemento en la muestra original

Muestra	Fracción n	Ca	Fe	Mn	S	As	Cd	Cu	Pb	Zn
		% en masa					mg kg ⁻¹			
$\phi < 250 \mu\text{m}$										
Taxco										
TJF-01	77	4.5	20	0.78	12	1255	268	229	514	20953
TJF-03	65	4.6	11	0.65	4.2	630	36	63	260	2599
TSF-07	50	3.3	6.5	0.27	2.9	1326	26	68	316	2152
TSF-08	54	2.5	12	0.86	2.7	2311	30	58	574	2757
San Luis Potosí										
SLP-01	62	0.32	1.2	0.027	1.1	436	110	465	611	3619
SLP-05	43	0.58	2.2	0.032	3.4	5204	516	7274	4656	3608
SLP-08	67	0.41	1.6	0.017	1.9	1138	42	3602	2095	1183
SLP-09	55	0.43	4.4	0.0055	22	350003	19586	26164	119549	146538
$2 \text{ mm} > \phi > 250 \mu\text{m}$										
Taxco										
TJF-01	23	2.4	2.2	0.16	4.4	152	35	31	84	2667
TJF-03	35	2.2	5.2	0.33	2.1	333	22	44	214	1564
TSF-07	50	4.7 ^b	2.2	0.072	0.62	173	15	45	100	1425
TSF-08	46	4.3 ^b	2.1	0.20	^a	231	8.6	34	121	1139
San Luis Potosí										
SLP-01	38	0.19	0.98	0.028	0.62	381	91	522 ^b	588	3135
SLP-05	57	0.89 ^b	1.1	0.022	1.1	2245	291	2277	1600	1521
SLP-08	33	0.16	0.47	0.010	0.35	245	12	946	425	251
SLP-09	45	0.38	3.1	0.0045	11	223157	11635	16480	77914	89265

ϕ diámetro o tamaño de las partículas

^a no se pudo calcular por estar abajo del límite de detección instrumental para el elemento

^b valores que se mostraron mayores en la fracción retenida

Como se presentó en la ecuación 6.4.1, la suma de las contribuciones de cada fracción debe dar el valor de la concentración total por lo que tiene que ser el mismo que el experimental determinado de la muestra original.

Así, las concentraciones de totales en la muestra original determinadas directamente y por la suma de las dos fracciones se presentan en la Tabla 6.4.4.

Tabla 6.4.4. Concentraciones totales experimentales y calculadas a partir de la relación absoluta de las fracciones de elementos en las muestras de Taxco y San Luis Potosí seleccionadas

Muestra	Ca	Fe	Mn	S	As	Cd	Cu	Pb	Zn
	% en masa				mg kg ⁻¹				
Concentración total directa									
Taxco									
TJF - 01	6.1	25	0.98	17	1838	312	304	646	25049
TJF - 03	6.9	15	0.95	7.0	924	65	96	461	3953
TSF - 07	8.0	8.7	0.37	4.4	1472	42	119	416	3652
TSF - 08	6.0	13	0.93	3.2	2554	39	97	682	3934
San Luis Potosí									
SLP - 01	0.50	2.3	0.054	< 0.6	852	208	1057	1233	7006
SLP - 05	1.7	4.1	0.060	8.2	9337	967	12379	7624	6378
SLP - 08	0.64	2.1	0.031	2.4	1447	92	4830	2584	1511
SLP - 09	0.82	7.7	< 0.01	42	631618	35669	45779	216452	259051
Concentración total calculada de la suma de las fracciones									
Taxco									
TJF - 01	6.9	22	0.94	17	1407	303	261	598	23620
TJF - 03	6.9	16	0.98	6.3	963	58	107	474	4162
TSF - 07	8.1	8.7	0.34	3.5	1499	41	112	415	3577
TSF - 08	6.8	14	1.1	3.0	2542	38	92	695	3896
San Luis Potosí									
SLP - 01	0.51	2.2	0.056	^a	817	200	987	1199	6754
SLP - 05	1.5	3.4	0.054	4.5	7449	806	9551	6256	5129
SLP - 08	0.57	2.0	0.028	2.2	1383	54	4550	2521	1435
SLP - 09	0.82	7.5	^a	33	573161	31221	42644	197463	235803

Los valores que se observan junto a < corresponden al límite de detección del equipo para el elemento

^a No es posible calcular porque por lo menos uno de los valores resultó por debajo del límite de detección

Se realizaron cálculos del error porcentual de la determinación por suma de fracciones con respecto al valor directo, y se presentan en la Tabla 6.4.5.

Tabla 6.4.5. Error porcentual de las concentraciones totales determinadas por la suma del contenido de fracciones con relación a las concentraciones totales experimentales

Muestra	Ca	Fe	Mn	S	As	Cd	Cu	Pb	Zn
% error									
Taxco									
TJF – 01	13	13	3.4	4.2	23	3.0	14	7.4	5.7
TJF – 03	0.44	4.5	3.8	10	4.3	11	12	2.8	5.3
TSF – 07	1.2	0.38	6.9	20	1.8	2.3	5.4	0.13	2.0
TSF – 08	15	3.4	13	8.4	0.46	1.6	5.9	2.0	0.95
San Luis Potosí									
SLP – 01	1.8	3.1	3.7	^a	4.0	3.6	6.6	2.8	3.6
SLP – 05	15	18	9.1	46	20	17	23	18	20
SLP – 08	11	5.9	12	6.1	4.4	41	5.8	2.4	5.1
SLP – 09	0.075	3.1	^a	22	9.3	12	6.8	8.8	9.0

^a No es posible calcular porque por lo menos uno de los valores resultó por debajo del límite de detección

Los errores son bajos y se encuentran en general por debajo del 10%. La Norma Oficial Mexicana recomienda un límite de control de $\pm 20\%$ del valor verdadero ⁶, de este modo se pudo observar que la mayoría de las muestras entran en este intervalo de error. Así, puede decirse que la determinación de la suma de las concentraciones de elementos en las dos fracciones es comparable con la determinación directa en las muestras originales, y esto aporta un nivel de confianza a las determinaciones realizadas por cualquiera de los métodos.

FUENTES BIBLIOGRÁFICAS

1. Sposito, G., *The chemistry of soils*. Second edition ed.; Oxford University Press: 2008.
2. Dean, J., *Bioavailability, bioaccessibility and mobility of environmental contaminants*. Wiley: 2008.
3. Kabata-Pendias, A.; Mukherjee, A. B., *Trace elements from soil to human*. Springer: 2007.
4. Abrahams, P., Geophagy and the involuntary ingestion of soil. In *Essentials of Medical Geology: Impact of the Natural Environment on Public Health*, Selinus, O.; Alloway, B.; Centeno, J.; Finkelman, R.; Fuge, R.; Ulf, L.; Smedley, P., Eds. Elsevier: Amsterdam, 2005; pp 435-458.
5. Wragg, J.; Cave, M. R., *In-vitro methods for the measurement of the oral bioaccessibility of the selected metal and metalloids in soils: A critical review*. Environment Agency and the British Geological Survey: 2002.
6. SEMARNAT/SSA1-2004, Proyecto de norma oficial mexicana PROY-NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plomo, selenio, talio y vanadio. In Naturales, S. d. M. A. y. R., Ed. Diario Oficial de la Federación: México, 2005; pp 5-17, 63-66.
7. Kabata-Pendias, A.; Pendias, H., *Trace Elements in Soils and Plants*. 3ra ed.; CRC Press: 2001.
8. Dodds, W. J.; Hsu, C. K., Introduction - strengths and limitations of the pig as an animal-model. *Federation Proceedings* **1982**, 41, (2), 247-248.
9. Casteel, S. W.; Cowart, R. P.; Weis, C. P.; Henningsen, G. M.; Hoffman, E.; Brattin, W. J.; Guzman, R. E.; Starost, M. F.; Payne, J. T.; Stockham, S. L.; Becker, S. V.; Drexler, J. W.; Turk, J. R., Bioavailability of lead to juvenile swine dosed with soil from the Smuggler Mountain NPL site of Aspen, Colorado. *Fundamental and Applied Toxicology* **1997**, 36, (2), 177-187.
10. Ellickson, K. M.; Meeker, R. J.; Gallo, M. A.; Buckley, B. T.; Liroy, P. J., Oral bioavailability of lead and arsenic from a NIST standard reference soil material. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **2001**, 40, (1), 128-135.

-
-
11. Freeman, G. B.; Johnson, J. D.; Liao, S. C.; Feder, P. I.; Davis, A. O.; Ruby, M. V.; Schoof, R. A.; Chaney, R. L.; Bergstrom, P. D., Absolute bioavailability of lead acetate and mining waste lead in rats. *Toxicology* **1994**, 91, (2), 151-163.
 12. Davis, A.; Ruby, M. V.; Bergstrom, P. D., Bioavailability of arsenic and lead in soils from The Butte, Montana, mining district. *Environmental Science & Technology* **1992**, 26, (3), 461-468.
 13. Freeman, G. B.; Johnson, J. D.; Killinger, J. M.; Liao, S. C.; Davis, A. O.; Ruby, M. V.; Chaney, R. L.; Lovre, S. C.; Bergstrom, P. D., Bioavailability of arsenic in soil impacted by smelter activities following oral-administration in rabbits. *Fundamental and Applied Toxicology* **1993**, 21, (1), 83-88.
 14. Freeman, G. B.; Schoof, R. A.; Ruby, M. V.; Davis, A. O.; Dill, J. A.; Liao, S. C.; Lapin, C. A.; Bergstrom, P. D., Bioavailability of arsenic in soil and house dust impacted by smelter activities following oral administration in cynomolgus monkeys. *Fundamental and Applied Toxicology* **1995**, 28, (2), 215-222.
 15. Ruby, M. V.; Davis, A.; Link, T. E.; Schoof, R.; Chaney, R. L.; Freeman, G. B.; Bergstrom, P., Development of an in-vitro screening-test to evaluate the in-vivo bioaccessibility of ingested mine-waste lead. *Environmental Science & Technology* **1993**, 27, (13), 2870-2877.
 16. Juhasz, A. L.; Weber, J.; Naidu, R.; Gancarz, D.; Rofe, A.; Todor, D.; Smith, E., Determination of cadmium relative bioavailability in contaminated soils and its prediction using in vitro methodologies. *Environmental Science & Technology* **2010**, 44, (13), 5240-5247.
 17. Connexions Digestion. <http://cnx.org/content/m20414/latest/> (March 30th),
 18. Paustenbach, D., The practice of exposure assessment: A state-of-the-art review (Reprinted from Principles and Methods of Toxicology, 4th edition, 2001). *Journal of Toxicology and Environmental Health-Part B-Critical Reviews* **2000**, 3, 179-291.
 19. Ruby, M. V.; Schoof, R.; Brattin, W.; Goldade, M.; Post, G.; Harnois, M.; Mosby, D. E.; Casteel, S. W.; Berti, W.; Carpenter, M.; Edwards, D.; Cragin, D.; Chappell, W., Advances in evaluating the oral bioavailability of inorganics in soil for use in human health risk assessment. *Environmental Science & Technology* **1999**, 33, (21), 3697-3705.
 20. Ruby, M. V.; Davis, A.; Schoof, R.; Eberle, S.; Sellstone, C. M., Estimation of lead and arsenic bioavailability using a physiologically based extraction test. *Environmental Science & Technology* **1996**, 30, (2), 422-430.
-
-

-
-
21. Hamel, S. C.; Buckley, B.; Lioy, P. J., Bioaccessibility of metals in soils for different liquid to solid ratios in synthetic gastric fluid. *Environmental Science & Technology* **1998**, 32, (3), 358-362.
 22. Maddaloni, M.; Lolocono, N.; Manton, W.; Blum, C.; Drexler, J.; Graziano, J., Bioavailability of soilborne lead in adults, by stable isotope dilution. *Environmental Health Perspectives* **1998**, 106, 1589-1594.
 23. Oomen, A. G.; Hack, A.; Minekus, M.; Zeijdner, E.; Cornelis, C.; Schoeters, G.; Verstraete, W.; Van de Wiele, T.; Wragg, J.; Rompelberg, C. J. M.; Sips, A.; Van Wijnen, J. H., Comparison of five in vitro digestion models to study the bioaccessibility of soil contaminants. *Environmental Science & Technology* **2002**, 36, (15), 3326-3334.
 24. Rodriguez, R. R.; Basta, N. T., An in vitro gastrointestinal method to estimate bioavailable arsenic in contaminated soils and solid media. *Environmental Science & Technology* **1999**, 33, (4), 642-649.
 25. Intawongse, M.; Dean, J. R., In-vitro testing for assessing oral bioaccessibility of trace metals in soil and food samples. *Trac-Trends in Analytical Chemistry* **2006**, 25, (9), 876-886.
 26. BARGE The Bioaccessibility Research Group of Europe. <http://www.bgs.ac.uk/barge/home.html> (April 11th),
 27. Juhasz, A. L.; Weber, J.; Smith, E.; Naidu, R.; Rees, M.; Rofe, A.; Kuchel, T.; Sansom, L., Assessment of Four Commonly Employed in Vitro Arsenic Bioaccessibility Assays for Predicting in Vivo Relative Arsenic Bioavailability in Contaminated Soils. *Environmental Science & Technology* **2009a**, 43, (24), 9487-9494.
 28. Mingot, J.; De Miguel, E.; Chacon, E., Assessment of oral bioaccessibility of arsenic in playground soil in Madrid (Spain): A three-method comparison and implications for risk assessment. *Chemosphere* **2011**, 84, (10), 1386-1391.
 29. Cave, M.; Taylor, H.; Wragg, J., Estimation of the bioaccessible arsenic fraction in soils using near infrared spectroscopy. *Journal of Environmental Science and Health Part a-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering* **2007**, 42, (9), 1293-1301.
 30. Yang, J. S.; Lee, J. Y.; Baek, K.; Kwon, T. S.; Choi, J., Extraction behavior of As, Pb, and Zn from mine tailings with acid and base solutions. *Journal of Hazardous Materials* **2009**, 171, (1-3), 443-451.
-
-

-
-
31. Le Bot, B.; Gilles, E.; Durand, S.; Glorennec, P., Bioaccessible and quasi-total metals in soil and indoor dust. *European Journal of Mineralogy* **2010**, 22, (5), 651-657.
 32. Yu, C. H.; Yiin, L. M.; Liroy, P. J., The bioaccessibility of lead (Pb) from vacuumed house dust on carpets in urban residences. *Risk Analysis* **2006**, 26, (1), 125-134.
 33. Rasmussen, P. E.; Beauchemin, S.; Nugent, M.; Dugandzic, R.; Lanouette, M.; Chenier, M., Influence of matrix composition on the bioaccessibility of copper, zinc, and nickel in urban residential dust and soil. *Human and Ecological Risk Assessment* **2008**, 14, (2), 351-371.
 34. Thums, C. R.; Farago, M. E.; Thornton, I., Bioavailability of trace metals in brownfield soils in an urban area in the UK. *Environmental Geochemistry and Health* **2008**, 30, (6), 549-563.
 35. Sahuquillo, A.; Rigol, A.; Rauret, G., Overview of the use of leaching/extraction tests for risk assessment of trace metals in contaminated soils and sediments. *Trac-Trends in Analytical Chemistry* **2003**, 22, (3), 152-159.
 36. Meers, E.; Du Laing, G.; Unamuno, V.; Ruttens, A.; Vangronsveld, J.; Tack, F. M. G.; Verloo, M. G., Comparison of cadmium extractability from soils by commonly used single extraction protocols. *Geoderma* **2007**, 141, (3-4), 247-259.
 37. López, J.; Mandado, J., Extracciones químicas secuenciales de metales pesados. Aplicación en ciencias geológicas. *Estudios Geológicos* **2002**, 58, 133-144.
 38. Jarva, J.; Tarvainen, T.; Lintinen, P.; Reinikainen, J., Chemical Characterization of Metal-Contaminated Soil in Two Study Areas in Finland. *Water Air and Soil Pollution* **2009**, 198, (1-4), 373-391.
 39. Quevauviller, P., Operationally defined extraction procedures for soil and sediment analysis - I. Standardization. *Trac-Trends in Analytical Chemistry* **1998**, 17, (5), 289-298.
 40. Kleczkowski, M.; Klucinski, W.; Sikora, J.; Zdanowicz, M., Role of antioxidants in the protection against oxidative stress in cattle - trace elements and enzymatic mechanisms (Part 3). *Polish Journal of Veterinary Sciences* **2004**, 7, (3), 233-240.
 41. Cornelis, R.; de Kimpe, J., Elemental speciation in biological fluids. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **1994**, 9, (9), 945-950.
 42. Ursinyova, M.; Masanova, V., Cadmium, lead and mercury in human milk from Slovakia. *Food Additives and Contaminants* **2005**, 22, (6), 579-589.
 43. Sarkar, B., *Heavy metals in the environment*. Marcel Dekker Inc.: 2002.
-
-

-
-
44. Kōljonen, T., The geochemical atlas of Finland. Geol. Survey of Finland, Espoo. *Journal of Environmental Quality* **1992**, 32, 2230–2237.
 45. Smith, E.; Naidu, R.; Alston, A. M., Arsenic in the soil environment: A review. *Advances in Agronomy, Vol 64* **1998**, 64, 149-195.
 46. Bissen, M.; Frimmel, F. H., Arsenic - a review. - Part 1: Occurrence, toxicity, speciation, mobility. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica* **2003**, 31, (1), 9-18.
 47. Gómez-Camín, A.; Howe, P.; Hughes, M.; Kenyon, E.; Lewis, D.; Moore, M. Arsenic and arsenic compounds. <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc224.htm> (April 10th),
 48. Jørgensen, S. E., *Principles of pollution abatement. Pollution abatement for the 21st century*. Elsevier: Amsterdam, 2000.
 49. Li, Y.-H., *A compendium of geochemistry: From solar nebula to the human brain*. Princeton Univ. Press: New Jersey, 2000.
 50. Reimann, C.; de Caritat, P., *Chemical elements in the environment: Factsheets for the geochemist and environmental scientist*. Springer: Berlin, 1998.
 51. FAO/WHO Committee on Food Additives and Contaminants. 31st Session, *Poison Paper on Arsenic*. CX/FAC 99/22; Alimentarius Commission, Food Standard Programme: Rome, 1998.
 52. ATSDR, Draft toxicological profile for several trace elements. In U.S. Dept Health Human Services. Agency for Toxic Substances and Disease Registry: Atlanta, 2002.
 53. Alloway, B., *Heavy metals in soils*. 2nd Edition ed.; Springer: 1994.
 54. Sposito, G.; Page, A., Circulation of metals in the environment. In *Metal ions in biological systems*, Sigel, H., Ed. Marcel Dekker: New York, 1984; Vol. 18, pp. 287-332.
 55. Welch, R. M.; Norvell, W. A., Mechanisms of cadmium uptake, translocation and deposition in plants. In *Cadmium in soils and plants*, McLaughlin, M. J.; Singh, B. R., Eds. Kluwer Publ: Netherlands, 1999; pp 125–150.
 56. Herrero, T. C.; Martin, L. F. L., Evaluation of cadmium levels in fertilized soils. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **1993**, 50, (1), 61-68.
 57. Lamy, I.; Bourgeois, S.; Bermond, A., Soil cadmium mobility as a consequence of sewage-sludge disposal. *Journal of Environmental Quality* **1993**, 22, (4), 731-737.
 58. WHO *Global environmental monitoring system, food, Europe. Report of the 1st Advisory Committee Meeting*; World Health Organization: Rome, 2001.
-
-

-
-
59. Yost, K. J., Cadmium, the environment and human health - an overview. *Experientia* **1984**, 40, (2), 157-164.
 60. WHO, Cadmium. Environmental health criteria. In Geneva, 1992; p. 134.
 61. ATSDR, Toxicological profile for copper. In U.S. Dept Health Human Services. Agency for Toxic Substances and Disease Registry: Atlanta, 1990.
 62. Aaseth, J.; Norseth, T., Copper. In *Handbook on the toxicology of metals*, 2da ed.; Friberg, L.; Nordberg, G. F.; Vouk, V. B., Eds. Elsevier: New York, 1986; Vol. 2, pp. 233–254.
 63. Ponizovsky, A. A.; Thakali, S.; Allen, H. E.; Di Toro, D. M.; Ackerman, A. J., Effect of soil properties on copper release in soil solutions at low moisture content. *Environmental Toxicology and Chemistry* **2006**, 25, (3), 671-682.
 64. Momcilovic, B., The copper group. In *Elements and their compounds in the environment*, 2da ed.; Merian, E.; Anke, A.; Inhat, M.; Stoeppler, M., Eds. VCH: Weinheim, 2004; pp. 731–750.
 65. WHO, Copper. Environmental health criteria. In Geneva, 1999; p. 2000.
 66. Angelone, M.; Bini, C., Trace elements concentration in soils and plants of Western Europe. In *Biogeochemistry of trace metals*, Adriano, D. C., Ed. Lewis Publ: Boca Raton, 1992; pp. 19–60.
 67. da Silva, E. F.; Zhang, C. S.; Pinto, L. S.; Patinha, C.; Reis, P., Hazard assessment on arsenic and lead in soils of Castromil gold mining area, Portugal. *Applied Geochemistry* **2004**, 19, (6), 887-898.
 68. WHO, Inorganic lead. Environmental health criteria. In Geneva, 1995; p. 165.
 69. WHO, Zinc. Environmental health criteria. In Geneva, 2004; p. 221.
 70. Morales, J. I. Estudio comparativo de la peligrosidad de jales en dos zonas mineras de México: Implicaciones ambientales. Tesis de Maestría, Universidad Nacional Autónoma de México, México D. F., 2010.
 71. Romero, F. M.; Gutiérrez, M. E., Estudio comparativo de la peligrosidad de jales en dos zonas mineras localizadas en el sur y centro de México. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana* **2010**, 62, 43-53.
 72. Romero, F. M.; Armienta, M. A.; Gonzalez-Hernandez, G., Solid-phase control on the mobility of potentially toxic elements in an abandoned lead/zinc mine tailings impoundment. *Applied Geochemistry* **2007**, 22, (1), 109-127.
-
-

-
-
73. Johnson, R. H.; Blowes, D. W.; Robertson, W. D.; Jambor, J. L., The hydrogeochemistry of the Nickel Rim mine tailings impoundment, Sudbury, Ontario. *Journal of Contaminant Hydrology* **2000**, 41, (1-2), 49-80.
 74. Lin, Z., Mobilization and retention of heavy metals in mill-tailings from Garpenberg sulfide mines, Sweden. *Science of the Total Environment* **1997**, 198, (1), 13-31.
 75. Moncur, M. C.; Ptacek, C. J.; Blowes, D. W.; Jambor, J. L., Release, transport and attenuation of metals from an old tailings impoundment. *Applied Geochemistry* **2005**, 20, (3), 639-659.
 76. Bain, J. G.; Blowes, D. W.; Robertson, W. D.; Frind, E. O., Modelling of sulfide oxidation with reactive transport at a mine drainage site. *Journal of Contaminant Hydrology* **2000**, 41, (1-2), 23-47.
 77. Armienta, M. A.; Villaseñor, G.; Rodriguez, R.; Ongley, L. K.; Mango, H., The role of arsenic-bearing rocks in groundwater pollution at Zimapan Valley, Mexico. *Environmental Geology* **2001**, 40, (4-5), 571-581.
 78. Jung, M. C., Heavy metal contamination of soils and waters in and around the Imcheon Au-Ag mine, Korea. *Applied Geochemistry* **2001**, 16, (11-12), 1369-1375.
 79. Kabata-Pendias, A.; Sadurski, W., Trace elements and compounds in soil. In *Elements and their compounds in the environment*, 2da ed.; Merian, E.; Anke, M.; Ihnat, M.; Stoepppler, M., Eds. Wiley-VCH: Weinheim, 2004; pp. 79–99.
 80. Chen, Z.-S. Selecting indicators to evaluate soil quality. www.fftc.agnet.org
 81. Romero, F. M.; Gutiérrez Ruiz, M. E. *Identificación de sitios para la disposición "in situ" de residuos en formación geológicamente estable, en terrenos del complejo metalúrgico de IMMSA en San Luis Potosí*; Industrial Minera México S.A. de C.V.: 2009.
 82. Juárez, M.; Franco, M.; Jaens, T.; Ascencio, V., *Manual de prácticas de laboratorio de química ambiental II*. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología. Instituto Politécnico Nacional: D.F., 2009.
 83. Gavlak, R.; Horneck, D.; Miller, R.; Kotuby-Amacher, J., *Soil, plant and water reference methods for the western region*. 2da ed.; WREP 125: 2003.
 84. Ball, D. F., Loss-on-ignition as an estimate of organic matter and organic carbon in non-calcareous soils. *Journal of Soil Science* **1964**, 15, (1), 84–92.
 85. Sparks, D., *Methods of soil analysis, part 3*. American Society of Agronomy: Madison, 1996.
-
-

-
-
86. Cheng, S. F.; Hseu, Z. Y., In-situ immobilization of cadmium and lead by different amendments in two contaminated soils. *Water Air and Soil Pollution* **2002**, 140, (1-4), 73-84.
87. Zhang, M. K.; Liu, Z. Y.; Wang, H., Use of Single Extraction Methods to Predict Bioavailability of Heavy Metals in Polluted Soils to Rice. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* **2010**, 41, (7), 820-831.
88. SEMARNAT/SSA1-2004, NORMA Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, Que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio. In *Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales*, Diario Oficial de la Federación: México, 2004; pp. 9-10.
89. Rollinson, H., *Using Geochemical Data: Evaluation, Presentation, Interpretation*. Longman Scientific & Technical: New York, 1993.
90. Miller, J. C.; Miller, J. N., *Statistics for Analytical Chemistry*. 2nd Edition ed.; Ellis Horwood: London, 1988.
91. Romero, F. M.; Armienta, M. A.; Gutiérrez, M. E., Factores geológicos y climáticos que determinan la peligrosidad y el impacto ambiental de jales mineros. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* **2008**, 24, (2), 43-54.
92. Martínez, E.; Fuentes, J. P.; Acevedo, E., Soil organic carbon and soil properties. *Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal* **2008**, 8, (1), 68-96.
93. Juhasz, A. L.; Smith, E.; Weber, J.; Rees, M.; Rofe, A.; Kuchel, T.; Sansom, L.; Naidu, R., In vitro assessment of arsenic bioaccessibility in contaminated (anthropogenic and geogenic) soils. *Chemosphere* **2007a**, 69, (1), 69-78.
94. Williams, T. M.; Rawlins, B. G.; Smith, B.; Breward, N., In-vitro determination of arsenic bioavailability in contaminated soil and mineral beneficiation waste from Ron Phibun, southern Thailand: A basis for improved human risk assessment. *Environmental Geochemistry and Health* **1998**, 20, (4), 169-177.
95. Meunier, L.; Koch, I.; Reimer, K. J., Effect of particle size on arsenic bioaccessibility in gold mine tailings of Nova Scotia. *Science of the Total Environment* **2011a**, 409, (11), 2233-2243.
96. Davis, A.; Ruby, M. V.; Bloom, M.; Schoof, R.; Freeman, G.; Bergstrom, P. D., Mineralogic constraints on the bioavailability of arsenic in smelter-impacted soils. *Environmental Science & Technology* **1996**, 30, (2), 392-399.
97. Denys, S.; Caboche, J.; Tack, K.; Rychen, G.; Wragg, J.; Cave, M.; Jondreville, C.; Feidt, C., In Vivo Validation of the Unified BARGE Method to Assess the
-
-

-
-
- Bioaccessibility of Arsenic, Antimony, Cadmium, and Lead in Soils. *Environmental Science & Technology* **2012**, 46, (11), 6252-6260.
98. Juhasz, A. L.; Weber, J.; Smith, E., Predicting arsenic relative bioavailability in contaminated soils using meta analysis and relative bioavailability-bioaccessibility regression models. *Environmental Science & Technology* **2011a**, 45, (24), 10676-10683.
99. Meunier, L.; Koch, I.; Reimer, K. J., Effects of organic matter and ageing on the bioaccessibility of arsenic. *Environmental Pollution* **2011b**, 159, (10), 2530-2536.
100. Meunier, L.; Koch, I.; Reimer, K. J., Effects of dissolution kinetics on bioaccessible arsenic from tailings and soils. *Chemosphere* **2011c**, 84, (10), 1378-1385.
101. Meunier, L.; Walker, S. R.; Wragg, J.; Parsons, M. B.; Koch, I.; Jamieson, H. E.; Reimer, K. J., Effects of soil composition and mineralogy on the bioaccessibility of arsenic from tailings and soil in gold mine districts of Nova Scotia. *Environmental Science & Technology* **2010a**, 44, (7), 2667-2674.
102. Meunier, L.; Wragg, J.; Koch, I.; Reimer, K. J., Method variables affecting the bioaccessibility of arsenic in soil. *Journal of Environmental Science and Health Part a-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering* **2010b**, 45, (5), 517-526.
103. Morman, S. A.; Plumlee, G. S.; Smith, D. B., Application of in vitro extraction studies to evaluate element bioaccessibility in soils from a transect across the United States and Canada. *Applied Geochemistry* **2009**, 24, (8), 1454-1463.
104. Saunders, J. R.; Knopper, L. D.; Koch, I.; Reimer, K. J., Inclusion of soil arsenic bioaccessibility in ecological risk assessment and comparison with biological effects. *Science of the Total Environment* **2011**, 412, 132-137.
105. Smith, B. A.; Kirk, J. L.; Stephenson, G. L., The influence of liquid to soil ratios on arsenic and lead bioaccessibility in reference and field soil. *Human and Ecological Risk Assessment* **2010**, 16, (1), 149-162.
106. Subacz, J. L.; Barnett, M. O.; Jardine, P. M.; Stewart, M. A., Decreasing arsenic bioaccessibility/bioavailability in soils with iron amendments. *Journal of Environmental Science and Health Part a-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering* **2007**, 42, (9), 1317-1329.
107. Walker, S. R.; Parsons, M. B.; Jamieson, H. E.; Lanzirotti, A., Arsenic mineralogy of near-surface tailings and soils: Influences on arsenic mobility and bioaccessibility in the nova scotia gold mining districts. *Canadian Mineralogist* **2009**, 47, (3), 533-556.
-
-

-
-
108. Wang, S.; Mulligan, C. N., Effect of natural organic matter on arsenic mobilization from mine tailings. *Journal of Hazardous Materials* **2009**, 169, 721 - 726.
 109. Wragg, J.; Cave, M.; Basta, N.; Brandon, E.; Casteel, S.; Denys, S.; Gron, C.; Oomen, A.; Reimer, K.; Tack, K.; Van de Wiele, T., An inter-laboratory trial of the unified BARGE bioaccessibility method for arsenic, cadmium and lead in soil. *Science of the Total Environment* **2011**, 409, (19), 4016-4030.
 110. Wragg, J.; Cave, M.; Nathanail, P., A Study of the relationship between arsenic bioaccessibility and its solid-phase distribution in soils from Wellingborough, UK. *Journal of Environmental Science and Health Part a-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering* **2007**, 42, (9), 1303-1315.
 111. Yang, J. K.; Barnett, M. O.; Zhuang, J. L.; Fendorf, S. E.; Jardine, P. M., Adsorption, oxidation, and bioaccessibility of As(III) in soils. *Environmental Science & Technology* **2005**, 39, (18), 7102-7110.
 112. Caboche, J.; Denys, S.; Feidt, C.; Delalain, P.; Tack, K.; Rychen, G., Modelling Pb bioaccessibility in soils contaminated by mining and smelting activities. *Journal of Environmental Science and Health Part a-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering* **2010**, 45, (10), 1264-1274.
 113. Denys, S.; Caboche, J.; Tack, K.; Delalain, P., Bioaccessibility of lead in high carbonate soils. *Journal of Environmental Science and Health Part a-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering* **2007**, 42, (9), 1331-1339.
 114. Hansen, J. B.; Oomen, A. G.; Edelgaard, I.; Gron, C., Oral bioaccessibility and leaching: Tests for soil risk assessment. *Engineering in Life Sciences* **2007**, 7, (2), 170-176.
 115. Juhasz, A. L.; Weber, J.; Smith, E., Impact of soil particle size and bioaccessibility on children and adult lead exposure in pen-urban contaminated soils. *Journal of Hazardous Materials* **2011b**, 186, (2-3), 1870-1879.
 116. Nathanail, C. P.; Smith, R., Incorporating bioaccessibility in detailed quantitative human health risk assessments. *Journal of Environmental Science and Health Part a-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering* **2007**, 42, (9), 1193-1202.
 117. Oomen, A. G.; Rompelberg, C. J. M.; Bruil, M. A.; Dobbe, C. J. G.; Pereboom, D.; Sips, A., Development of an in vitro digestion model for estimating the bioaccessibility of soil contaminants. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **2003**, 44, (3), 281-287.
-
-

-
-
118. Pelfrene, A.; Waterlot, C.; Douay, F., In vitro digestion and DGT techniques for estimating cadmium and lead bioavailability in contaminated soils: Influence of gastric juice pH. *Science of the Total Environment* **2011a**, 409, (23), 5076-5085.
 119. Pelfrene, A.; Waterlot, C.; Douay, F., Investigation of DGT as a metal speciation tool in artificial human gastrointestinal fluids. *Analytica Chimica Acta* **2011b**, 699, (2), 177-186.
 120. Pelfrene, A.; Waterlot, C.; Mazzuca, M.; Nisse, C.; Bidar, G.; Douay, F., Assessing Cd, Pb, Zn human bioaccessibility in smelter-contaminated agricultural topsoils (northern France). *Environmental Geochemistry and Health* **2011c**, 33, (5), 477-493.
 121. Pelfrene, A.; Waterlot, C.; Mazzuca, M.; Nisse, C.; Cuny, D.; Richard, A.; Denys, S.; Heyman, C.; Roussel, H.; Bidar, G.; Douay, F., Bioaccessibility of trace elements as affected by soil parameters in smelter-contaminated agricultural soils: A statistical modeling approach. *Environmental Pollution* **2012**, 160, 130-138.
 122. Romero, F. M.; Villalobos, M.; Aguirre, R.; Gutierrez, M. E., Solid-phase control on lead bioaccessibility in smelter-impacted soils. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **2008**, 55, (4), 566-575.
 123. Roussel, H.; Waterlot, C.; Pelfrene, A.; Pruvot, C.; Mazzuca, M.; Douay, F., Cd, Pb and Zn oral bioaccessibility of urban soils contaminated in the past by atmospheric emissions from two lead and zinc smelters. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **2010**, 58, (4), 945-954.
 124. Sialelli, J.; Davidson, C. M.; Hursthouse, A. S.; Ajmone-Marsan, F., Human bioaccessibility of Cr, Cu, Ni, Pb and Zn in urban soils from the city of Torino, Italy. *Environmental Chemistry Letters* **2011**, 9, (2), 197-202.
 125. Smith, E.; Kempson, I. M.; Juhasz, A. L.; Weber, J.; Rofe, A.; Gancarz, D.; Naidu, R.; McLaren, R. G.; Grafe, M., In Vivo-in Vitro and XANES spectroscopy assessments of lead bioavailability in contaminated periurban soils. *Environmental Science & Technology* **2011a**, 45, (14), 6145-6152.
 126. Smith, E.; Weber, J.; Naidu, R.; McLaren, R. G.; Juhasz, A. L., Assessment of lead bioaccessibility in peri-urban contaminated soils. *Journal of Hazardous Materials* **2011b**, 186, (1), 300-305.
 127. Tang, X. Y.; Cui, Y. S.; Duan, J.; Tang, L., Pilot study of temporal variations in lead bioaccessibility and chemical fractionation in some Chinese soils. *Journal of Hazardous Materials* **2008**, 160, (1), 29-36.
 128. Van de Wiele, T. R.; Oomen, A. G.; Wragg, J.; Cave, M.; Minekus, M.; Hack, A.; Cornelis, C.; Rompelberg, C. J. M.; De Zwart, L. L.; Klinck, B.; Van Wijnen, J.;
-
-

-
-
- Verstraete, W.; Sips, A., Comparison of five in vitro digestion models to in vivo experimental results: Lead bioaccessibility in the human gastrointestinal tract. *Journal of Environmental Science and Health Part a-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering* **2007**, 42, (9), 1203-1211.
129. Zia, M. H.; Codling, E. E.; Scheckel, K. G.; Chaney, R. L., In vitro and in vivo approaches for the measurement of oral bioavailability of lead (Pb) in contaminated soils: A review. *Environmental Pollution* **2011**, 159, (10), 2320-2327.
130. Chan, D. Y.; Black, W. D.; Hale, B. A., Cadmium bioavailability and bioaccessibility as determined by in vitro digestion, dialysis and intestinal epithelial monolayers, and compared to in vivo data. *Journal of Environmental Science and Health Part a-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering* **2007**, 42, (9), 1283-1291.
131. Schroder, J. L.; Basta, N. T.; Si, J. T.; Casteel, S. W.; Evans, T.; Payton, M., In vitro gastrointestinal method to estimate relative bioavailable cadmium in contaminated soil. *Environmental Science & Technology* **2003**, 37, (7), 1365-1370.
132. Tang, X. Y.; Zhu, Y. G.; Cui, Y. S.; Duan, J.; Tang, L., The effect of ageing on the bioaccessibility and fractionation of cadmium in some typical soils of China. *Environment International* **2006**, 32, (5), 682-689.
133. Juhasz, A. L.; Weber, J.; Smith, E.; Naidu, R.; Marschner, B.; Rees, M.; Rofe, A.; Kuchel, T.; Sansom, L., Evaluation of SBRC-Gastric and SBRC-Intestinal methods for the prediction of *in vivo* relative lead bioavailability in contaminated soils. *Environmental Science & Technology* **2009b**, 43, (12), 4503-4509.
134. Martinez, C. E.; McBride, M. B., Cd, Cu, Pb, and Zn coprecipitates in Fe oxide formed at different pH: Aging effects on metal solubility and extractability by citrate. *Environmental Toxicology and Chemistry* **2001**, 20, (1), 122-126.
135. O'Reilly, S. E.; Hochella, M. F., Lead sorption efficiencies of natural and synthetic Mn and Fe-oxides. *Geochimica Et Cosmochimica Acta* **2003**, 67, (23), 4471-4487.
136. Grøn, C.; Andersen, L. *Human bioaccessibility of heavy metals and PAH from soil, Environmental Project No. 840 2003*; Danish Environmental Protection Agency, Technology Programme for Soil and Groundwater Contamination. DHI—Water and Environment: Denmark, 2003; p. 113.
137. Juhasz, A. L.; Smith, E.; Weber, J.; Rees, M.; Rofe, A.; Kuchel, T.; Sansom, L.; Naidu, R., Comparison of in vivo and in vitro methodologies for the assessment of arsenic bioavailability in contaminated soils. *Chemosphere* **2007b**, 69, (6), 961-966.
138. MILLIPORE, Ultrafiltration Membranes. In *Ultrafiltration Membranes for Macromolecule Processing*, USA, 2008.
-
-

-
-
139. Kosmulski, M., Compilation of PZC and IEP of sparingly soluble metal oxides and hydroxides from literature. *Advances in Colloid and Interface Science* **2009**, 152, (1-2), 14-25.
 140. Cuzcano, R. *Gestion Ambiental de Sitios Contaminados. Evaluacion Inicial, Evaluacion de la Exposición y Remediacion Utilizando Tecnologías Innovadoras*; Ilo, 2001.
 141. Vasiluk, L.; Dutton, M. D.; Hale, B., In vitro estimates of bioaccessible nickel in field-contaminated soils, and comparison with in vivo measurement of bioavailability and identification of mineralogy. *Science of the Total Environment* **2011**, 409, (14), 2700-2706.
 142. Canalejo, A. Principios de toxicología ambiental. Evaluacion de riesgo toxicológico. <http://www.uhu.es/antonio.canalejo/documentos/DOCTORADO/2.%20Principios.pdf>
 143. USEPA, Integrated risk information system-database. In Philadelphia PA; Washington, DC, 2007.