



# **UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

## **PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS**

**DISEÑO Y EVALUACIÓN DE UN MÉTODO DE EXTRACCIÓN SIMPLE PARA DETERMINAR LA BIOACCESIBILIDAD DE As, Pb, Cu, Zn y Cd POTENCIALMENTE TÓXICOS EN SUELOS CONTAMINADOS POR RESIDUOS MINERO-METALÚRGICOS**

### **TESIS**

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE**

### **MAESTRO EN CIENCIAS**

**PRESENTA**

**Q. ALICIA SANTANA SILVA**

**TUTOR**

**Dr. MARIO VILLALOBOS PEÑALOSA**

**INSTITUTO DE GEOLOGÍA UNAM**

**MÉXICO, D.F. MARZO 2016**



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. Elvira Santos Santos  
Facultad de Química, UNAM

### ***Vocal***

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

### ***Vocal***

Dra. Irma Cruz Gavilán García  
Facultad de Química, UNAM

### ***Vocal***

Dr. Francisco Martín Romero  
Instituto de Geología, UNAM

### ***Secretario***

Dr. Eduardo Rodríguez de San Miguel Guerrero  
Facultad de Química, UNAM



---

Tutor  
Dr. Mario Villalobos Peñalosa

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Geoquímica Ambiental del Instituto de Geología de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la asesoría del Dr. Mario Villalobos Peñalosa.

Los resultados del trabajo realizado se presentaron en:

**XXVIII Congreso Nacional de Química Analítica (AMQA 2015).** Ixtapa, Guerrero. Junio 24-27, 2015 (presentación en cartel),

Alicia Santana Silva, Mario Villalobos Peñalosa (2015) *“Diseño y evaluación de un método de extracción simple para determinar la bioaccesibilidad de especies potencialmente tóxicas en suelos contaminados por residuos minero-metalúrgicos”*

## Agradecimientos

Al Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas por el apoyo otorgado para el estudio de mi posgrado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca No. 294116 otorgada para realizar mis estudios de maestría.

Al Dr. Mario Villalobos Peñalosa, por aceptarme en su grupo de investigación, por la asesoría y dirección de la tesis.

Al Dr. Francisco Martín Romero, por permitirme usar las instalaciones de su laboratorio para realizar este proyecto.

A los técnicos académicos: al QI Inés Ramos y al QFB José Manuel Montaña por su invaluable ayuda en el muestreo realizado en Taxco, Guerrero, México. A la QFB Fabiola Vega por su apoyo y ayuda en la realización de este trabajo de investigación. Al M. en C. Javier Tadeo León por los análisis en *ICP-OES*.

A mis compañeros y amigos del laboratorio: Arturo, Daniel, Kathy, Mariana, Milton, Perla y Víctor.

A los miembros del H. Jurado, por sus importantes aportaciones para mejorar este escrito.

*“Entonces déjenos intentar escalar la montaña, no  
písando sobre lo que hay debajo de nosotros, sino  
que impulsándonos hacia lo que hay sobre nosotros,  
por mí parte en las estrellas; amén”*

*M.C. Escher*

## Contenido

Resumen .....	12
Abstract .....	12
CAPÍTULO I Problemática .....	13
I.1 Introducción .....	13
I.2 Objetivo general .....	15
I.3. Objetivos particulares .....	15
I.4. Hipótesis .....	16
CAPÍTULO II Marco teórico.....	17
II.1 Actividades minero-metalúrgicas .....	17
II. 2 Aparato digestivo.....	20
II.3 Biodisponibilidad (BD) y bioaccesibilidad (BA) .....	21
II. 4 Variables que influyen en el método de bioaccesibilidad .....	25
II.4.1 Temperatura .....	25
II.4.2 Tiempo.....	25
II.4.3 Agitación.....	26
II.4.4 Cantidad de muestra (masa) y volumen de fluido gástrico simulado .....	26
II.4.5 pH .....	27
II.5 Estudios reportados para la validación de los métodos de bioaccesibilidad .....	27
II.6 Métodos de extracción simple reportados .....	33
II.6.1. Extracciones simples con HCl.....	34
II. 7. Descripción de los sitios de estudio .....	35
II.7.1 Zona minera .....	36
II.7.3 Zona metalúrgica.....	36
CAPÍTULO III Metodología experimental.....	39
III.1 Muestreo.....	39
III.2 Consideraciones generales.....	45
III.2.1. Materiales y equipo .....	45
III.2.2 Preparación de muestras y parámetros generales .....	46
III.2.3. Valores de pH y conductividad eléctrica, CE .....	46
III.2.4. Fluorescencia de rayos X, FRX .....	46
III.2.5 Extracción de los elementos potencialmente tóxicos .....	47
III.2.5.1 Bioaccesibilidad.....	47
III.2.5.2 Extracción simple .....	48
III.2.6 Filtración .....	48
III.2.7 Análisis estadístico.....	49
CAPÍTULO IV Resultados y discusión .....	50

IV.1. Valores de pH y conductividad eléctrica (CE) .....	50
IV.2. Fluorescencia de rayos X .....	53
IV.3. Extracción de EPT .....	55
IV.3.1. Método de filtración.....	55
IV.4. Bioaccesibilidad y extracciones simples .....	59
IV.4.1. Bioaccesibilidad .....	59
IV.4.2. Extracciones simples .....	65
IV.5. Correlaciones entre los métodos de extracción.....	75
CAPITULO V Conclusiones y recomendaciones .....	86
V. 1. Conclusiones .....	86
V. 2. Recomendaciones .....	87
Anexo .....	88
Disposición controlada de los residuos producidos en esta investigación .....	88
Referencias bibliográficas .....	89



## Índice de figuras

Figura 1. Sistema digestivo .....	21
Figura 2. Curva de valoración de la glicina. El pH controla la carga de la glicina, carga positiva por debajo de pH=2.3; aniónica por encima de pH=9.6, y zwitteriónica entre 2.3 y 9.6. el pH isoeléctrico es 6.0 (Wade, 2004).....	29
Figura 3. Biodisponibilidad relativa con cerdos de Pb en función de la bioaccesibilidad <i>in vitro</i> (IVBA) usando el método SBRC, en fase gástrica. Comparación de los métodos de correlación: de mínimos cuadrados (WLS) y de distribución Chi-cuadrada (CMF) (Drexler y Brattin, 2007).....	31
Figura 4. Correlación entre la BA y la BD de As del método SBRC en la fase gástrica. $BD = 0.93 \times BA + 14.19$ (mg/kg); $r^2 = 0.92$ (Íd, 2007) .....	32
Figura 5. Correlación entre la BD (en muestras de hígado y riñones de ratones) y BA (método SBRC) en la FG y FI para el Cd (Íd, 2010) .....	32
Figura 6. Mapa de ubicación de las zonas de muestreo (a) muestras de suelos de SLP y (b) presas de jales de Taxco, Guerrero, México (Google Earth, 2014) .....	38
Figura 7. Presa de jales “La Concha” (jales oxidados color marrón): a) Perfil 1. b) Sitio donde se tomaron las muestras de suelos SC1 y SC2, cercanas a un río. c) Muestra de suelo SC2.....	42
Figura 8. Presa de jales “El Fraile”, se puede apreciar la presencia de material vegetal.....	43
Figura 9. Presa de jal “El Fraile”: a) Perfil 3, señalando sus horizontes (HA: horizonte A, HB: horizonte B, HC: horizonte C), b) Perfil 4. c) Perfil 4, señalando sus horizontes. d) Jales oxidados, T1 .....	44
Figura 10. Presa de jales Foster, Perfil 5.....	44
Figura 11. Equipo extractor construido para realizar el procedimiento para caracterizar la toxicidad del lixiviado del método SBRC (imagen de lado izquierda fue tomada de DOF, 2007) .....	47
Figura 12. Resultados de las concentraciones de los EPT después de una extracción simple con HCl a pH 1.5 por una hora, con filtración a través de una de dos membranas de tamaño de poro diferente: 0.45 $\mu\text{m}$ y 0.05 $\mu\text{m}$ . En todos los gráficos se muestran las desviaciones estándar como barras de error .....	58
Figura 13. Comparación de las concentraciones obtenidas usando el método que simula la fase gástrica, extracción con glicina (SBRC) y las extracciones únicamente con HCl en las muestras de Taxco, Guerrero. Ambas extracciones se realizaron con estricto control de $\text{pH} = 1.5 \pm 0.1$ (las líneas sólo sirven para ubicar los datos, pues no tiene significado unir muestras de diferentes localidades entre sí) .....	71
Figura 14. Comparación de las concentraciones obtenidas usando el método que simula la fase gástrica, en su extracción con glicina (SBRC) y en su extracción únicamente con HCl, en las muestras de SLP. Ambas extracciones se realizaron con estricto control de $\text{pH} = 1.5$ .....	72
Figura 15. Comparación de las concentraciones obtenidas usando el método que simula la fase gástrica, en su extracción con glicina (SBRC) y en su extracción únicamente con HCl, en las muestras de SLP. Ambas extracciones se realizaron con estricto control de $\text{pH} = 1.5$ .....	75
Figura 16. Rectas de regresión lineal entre las extracciones con HCl a $\text{pH} = 1.5$ y las extracciones con glicina con estricto control de $\text{pH} = 1.5$ en la zona de SLP .....	78

Figura 17. Rectas de regresión lineal entre las extracciones de HCl y glicina únicamente para el arsénico. Se han separado las gráficas de acuerdo con las características de las muestras. a) En suelos, b) en jales, c) en jales oxidados, c') en jales oxidados omitiendo el valor más alto de concentración, y d) en jales reducidos .....	81
Figura 18. Rectas de regresión lineal entre las extracciones de HCl y glicina únicamente del plomo en SLP. En cada gráfica se ha omitido el valor de las muestras SLP06, SLP07 y/o SLP09. (a) Sin SLP06, (b) sin SLP07, (c) sin SLP09, (d) sin SLP06, SLP07 y SLP09, y (e) sin SLP06 y SLP07 .....	84
Figura 19. Diagrama del tratamiento de los residuos generados .....	88

## Índice de tablas

Tabla 1. Concentraciones de referencia totales por tipo de uso de suelo (DOF, 2007).....	20
Tabla 2. Clave, ubicación y características de las muestras de jales y suelos de Taxco, Guerrero, México .....	40
Tabla 3. Resultados de pH y CE de cada una de las muestras (los suelos de Taxco están sombreados en color).....	50
Tabla 4. Resultados de FRX, concentraciones totales [mg/kg] de los EPT (los suelos de Taxco están sombreados en color).....	53
Tabla 5. Concentraciones (mg/kg) bioaccesibles de los EPT estudiados en la fase gástrica por el método <i>SBRC</i> (con glicina). Entre paréntesis se muestran las desviaciones estándar de las mediciones (los suelos de Taxco están sombreados en color) .....	59
Tabla 6. Concentraciones (mg/kg) resultado de las extracciones con HCl a pH= 1.5±0.1. Entre paréntesis se muestran las desviaciones estándar de las mediciones (los suelos de Taxco están sombreados en color).....	65
Tabla 7. Porcentaje bioaccesible de los EPT correspondiente al método de extracción evaluado (los suelos de Taxco están sombreados en color).....	66

## Abreviaturas y símbolos

BA	Bioaccesibilidad
BD	Biodisponibilidad
BDR	Biodisponibilidad relativa
CE	Conductividad eléctrica
cm	Centímetro
CV	Coefficiente de variación
DE	Desviación estándar
EPT	Elementos potencialmente tóxicos
FG	Fase gástrica
FI	Fase intestinal
FRX	Fluorescencia de rayos X
Gly	Glicina
IVBA	Bioaccesibilidad <i>in vitro</i> (por sus siglas en inglés <i>In vitro Bioaccessibility Assay</i> )
kDa	Kilodalton
M10	Malla 10, tamaño de partícula menor a 2 mm
M60	Malla 60, tamaño de partícula menor a 250 µm
nm	Nanómetros
PBET	Método de extracción basado en la fisiología (por sus siglas en inglés <i>physiologically based extraction test</i> )
ppm	Partes por millón
RBA	Biodisponibilidad relativa (por sus siglas en inglés <i>relative bioavailability</i> )
rpm	Revoluciones por minuto
SBRC	Consortio de investigación sobre solubilidad y biodisponibilidad (por sus siglas en inglés <i>Solubility and Bioavailability Research Consortium</i> )
UTM	Sistema de coordenadas universal transversal de Mercator (por sus siglas en inglés <i>Universal Transverse Mercator</i> )
µg	Microgramos
µm	Micrómetros

## Resumen

En la presente investigación se evaluó el potencial de un método de extracción simple para determinar la bioaccesibilidad (BA) de As, Pb, Cu, Zn y Cd en muestras de suelos contaminados con residuos minero-metalúrgicos y residuos mineros de la zona de Taxco, Guerrero y la ciudad de San Luis Potosí (SLP), en México. Se utilizó la prueba SBRC (por sus siglas en inglés “consorcio de investigación sobre solubilidad y biodisponibilidad”) como método de BA comparativo contra una extracción simple usando una disolución de HCl a pH de 1.5. Se obtuvieron excelentes correlaciones para los metales Cd, Cu y Zn ( $r^2 \geq 0.96$ ), en todas las muestras analizadas ( $n=42$ ). El As por su parte sólo mostró alta correlación en las muestras de SLP ( $r^2=0.99$ ), pero no en las muestras de Taxco ( $r^2=0.78$ ). El Pb, de forma contraria, correlacionó mejor en las muestras de Taxco ( $r^2=0.99$ ) que en las de SLP ( $r^2=0.85$ ). Las diferencias encontradas entre los dos métodos de extracción para estos dos elementos probablemente se deban a su especiación química, con estabilidades variables ante ambos medios de extracción. Sin embargo, de forma general, el HCl como medio extractante puede usarse como método sencillo para evaluar una situación de riesgo potencial en zonas contaminadas por metales y metaloides.

Palabras claves: Bioaccesibilidad, extracción simple

## Abstract

In this research the potential of a single extraction method was evaluated to determine the bioaccessibility (BA) of As, Pb, Cu, Zn and Cd in samples from soils contaminated by mining-metallurgical wastes and mining wastes from Taxco, Guerrero and the City of San Luis Potosí (SLP), in Mexico. The SBRC test (Solubility and Bioavailability Research Consortium) was used as a BA comparative method *versus* a simple extraction method using HCl solution at pH 1.5. Very high correlations were obtained between two extraction methods for Cd, Cu, and Zn, ( $r^2 \geq 0.96$ ), in all the samples ( $n=42$ ). Samples containing As, however, only showed high correlation in SLP ( $r^2=0.99$ ), but not in the Taxco samples ( $r^2=0.78$ ). Conversely, samples with Pb showed better correlation in those from Taxco ( $r^2=0.99$ ) than in SLP ( $r^2=0.85$ ). The differences found between both extraction methods for these two elements could be due to their chemical speciation, with variable extractabilities under the media in the simple and the SBRC methods. However, in general HCl may be used as an adequate simple extractant to evaluate the potential risk in areas that are contaminated by metals and metalloids.

Key words: bioaccessibility, simple extraction

### I.1 Introducción

Los suelos son considerados sistemas abiertos, multicomponentes, biogeoquímicos que contienen sólidos, líquidos y gases. El hecho de que sean sistemas abiertos implica el intercambio de materia y energía con sus alrededores: atmósfera, biosfera e hidrosfera (Sposito, 2008).

Los suelos contaminados con elementos potencialmente tóxicos (EPT) constituyen un riesgo para la salud humana, así como para la biota. A bajas concentraciones algunos EPT, por ejemplo, cobre, cromo, molibdeno, selenio, zinc, son esenciales para el funcionamiento de la salud humana y para el crecimiento de plantas y animales. Sin embargo, estos elementos en altas concentraciones tienen la característica de ser tóxicos y de provocar efectos adversos. Otros elementos como el arsénico, cadmio, mercurio y plomo son tóxicos aún en concentraciones bajas tanto para el ser humano como para animales y plantas (Alloway, 1995).

Se considera un suelo contaminado con EPT cuando las concentraciones totales de ciertos elementos superan las concentraciones naturales de fondo. Sin embargo, el hecho de que un suelo se encuentre altamente contaminado no significa que éste sea un riesgo para la biota, ya que para ello los EPT deben encontrarse en sus formas biodisponibles y geodisponibles. De esta forma éstos podrían ser absorbidos por los organismos vivos, podrían lixiviarse o moverse y contaminar otros medios (Gutiérrez *et al.*, 2007).

La industria minero-metalúrgica ha sido durante siglos una gran fuente de ingreso de recursos económicos; sin embargo, también 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 ambiental, además de ser una fuente directa de exposición a estos elementos para los humanos por ingestión accidental de suelo, inhalación de polvos, y absorción a través de la piel.

La disponibilidad de EPT hacia seres vivos en suelos contaminados va a depender de las formas químicas en las que se encuentren, de sus asociaciones mineralógicas y de ciertas condiciones químicas como pH, estado de oxidación y de agentes que forman complejos.

Una de las rutas de exposición de contaminantes ambientales en los seres humanos y animales es por ingestión oral. La ingesta se puede dar mediante el consumo del suelo de forma directa o de manera indirecta a través de vegetales, animales, y agua potable que estén contaminados por polvos de suelo conteniendo estos elementos, lo cual es causa de efectos nocivos sobre la salud. La ingesta de suelo es un problema importante en comunidades que viven en zonas aledañas a residuos minero-metalúrgicos.

La biodisponibilidad (BD) de EPT en suelos afectados por las actividades minero-metalúrgicas pueden determinarse a través de pruebas *in vitro* que se realizan utilizando equipos que simulan condiciones gástricas o gastrointestinales de los seres humanos. A la BD determinada de manera *in vitro* se le denomina bioaccesibilidad (BA) (Carrizales *et al.*, 2006, Ruby *et al.*, 1999).

Las pruebas de BA estiman qué porción de EPT puede llegar a estar solubles en un fluido gastrointestinal simulado (Ruby *et al.*, 1999). Estos ensayos pueden ser utilizados como un sustituto para la BD *in vivo* cuando están sustentados por pruebas científicas sustanciales y, además, se ha demostrado que el método es robusto, reproducible y válido con respecto a la predicción de la BD *in vivo* (Meunier *et al.*, 2011b; Van de Wiele *et al.*, 2007). Aunque los métodos *in vitro* se han enfocado primordialmente en la determinación oral de arsénico y plomo, los resultados se pueden extrapolar para otros metales.

Se han propuesto varios métodos para determinar la BA. Uno de ellos es la prueba SBRC (por sus siglas en inglés consorcio de investigación sobre solubilidad y biodisponibilidad) para determinar la BA de plomo. Esta prueba consiste en la extracción de los contaminantes en la fase gástrica, a pH=1.5,

usando una disolución amortiguadora de glicina 0.04 M (Drexler y Brattin, 2007). Cabe mencionar que este método es el que adoptó la Norma Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 para evaluar la BA de plomo en suelos contaminados.

La BA correlaciona altamente con la BD medida *in vivo* y, por tanto es sumamente útil para estimar con gran exactitud ésta última, la cual es demasiado laboriosa y costosa y requiere del sacrificio de seres vivos. Sin embargo, por ser la BA un método todavía complejo, ya que requiere un equipo diseñado específicamente para esta prueba (Drexler y Brattin, 2007), es necesario el diseño de uno más simple aún, aplicable de forma generalizada en laboratorios de análisis ambiental, pero que correlacione fuertemente con la BA.

Por lo anterior los objetivos de este proyecto de investigación son los enunciados a continuación.

## I.2 Objetivo general

- Evaluar un método de extracción sencillo diseñándolo mediante la utilización de HCl que se correlacione altamente con el método de BA de SBRC para As, Pb, Zn, Cu y Cd en varios lotes de residuos mineros, de suelos contaminados por residuos mineros y de suelos contaminados por residuos metalúrgicos, de dos zonas seleccionadas de México.

## I.3. Objetivos particulares

- Realizar un muestreo de suelos contaminados por residuos metalúrgicos en San Luis Potosí, y de residuos mineros (jales) y suelos en Taxco, Guerrero.
- Determinar la bioaccesibilidad de los elementos potencialmente tóxicos (EPT) As, Pb, Zn, Cu, y Cd, de todas las muestras utilizando el método SBRC.
- Realizar una extracción sencilla utilizando HCl ajustando a pH=1.5 de todas las muestras.



- Analizar los EPT en todas las muestras.
- Determinar el grado de correlación lineal entre los resultados de ambos métodos.

#### I.4. Hipótesis

Las hipótesis que se plantearon en esta investigación fueron:

- A pesar de que la composición del tracto gastrointestinal humano es compleja, el componente primordial desde el punto de vista de extracción de EPT en éste es el HCl y, por tanto, extracciones simples con HCl podrán correlacionar fuertemente con las del método *SBRC* al mismo valor de pH (la cual a su vez correlaciona bastante bien con los valores de biodisponibilidad), para residuos mineros y suelos contaminados por residuos minero-metalúrgicos de México.
- El éxito para obtener altos coeficientes de correlación entre ambos métodos estará determinado por el cuidado en las condiciones de las extracciones, para asegurar su alta reproducibilidad experimental. Entre éstas:
  - Variaciones de pH de menos de 0.1 unidades,
  - Variaciones de tiempos de extracción de menos de 5 minutos y
  - El uso de filtros de poro más pequeño (0.05  $\mu\text{m}$  vs. 0.45  $\mu\text{m}$ ) que permitan separar las fracciones estrictamente disueltas de aquellas en formas coloidales presentes en los extractos.
- Las correlaciones serán altas dependientemente del grado de bioaccesibilidad por diferencias en mineralogía y grados de oxidación en las muestras.

A continuación, en el siguiente capítulo se presenta el marco teórico que sirve de sustento para alcanzar los objetivos planteados y probar las hipótesis.

### II.1 Actividades minero-metalúrgicas

La minería es una de las actividades económicas de mayor tradición en México, la cual ha contribuido desde antes de la época prehispánica hasta nuestros tiempos en el desarrollo del país. Antes de la llegada de los españoles ya se realizaban actividades mineras y metalúrgicas en lo que hoy son los estados de Chiapas, Guerrero, Oaxaca y Querétaro. A partir del siglo XVI, esta actividad se volvió una de las más importantes como fuentes de ingresos en el país dando lugar a la creación de ciudades como Chihuahua, Durango, Guanajuato, Saltillo, San Luis Potosí y Zacatecas (Cortinas de Nava, 2014).

En la actualidad, la actividad minera sigue constituyendo una fuente importante de divisas, a pesar de la caída internacional de los precios de los metales, conserva una participación ascendente en la economía nacional, una notable contribución a la producción mundial, además de ser una fuente de empleos para cerca de medio millón de trabajadores (Cortinas de Nava, 2014). Actualmente la industria minera nacional ocupa el primer lugar en la producción de plata a nivel mundial y se ubica entre los diez principales productores de 16 diferentes metales y minerales como oro, plomo, zinc cobre, bismuto, fluorita, celestina, wollastonita, cadmio, diatomita, molibdeno, barita, grafito, sal, yeso y manganeso principalmente (SE, 2015).

El resultado de dicha actividad ha generado grandes cantidades de residuos, mejor conocidos como colas (tailings), relaves o jales de granulometría fina. Estos jales se generan durante el proceso de extracción/concentración de los metales de interés a partir de minerales metalíferos, tras moler las rocas originales que los contienen y mezclar las partículas que se forman con soluciones extractantes que facilitan la liberación de los metales de interés (Cortinas de Nava, 2014; Gutiérrez *et al.*, 2007).

Los jales que se generan contienen sulfuros metálicos residuales como la pirita ( $\text{FeS}_2$ ), galena ( $\text{PbS}$ ), esfarelita ( $\text{ZnS}$ ), calcopirita ( $\text{CuFeS}_2$ ) y arsenopirita ( $\text{FeAsS}$ )

que son fuente de EPT como As, Cd, Cu, Pb, Zn entre otros (Gutiérrez *et al.*, 2007).

La oxidación de estos sulfuros metálicos conlleva a la generación de drenaje ácido, disolución que por el bajo pH conlleva altas concentraciones de EPT disueltos. Estos residuos con alto contenido de EPT pueden convertirse en un problema ambiental severo ya que, al haber sido depositados a cielo abierto, están sujetos a la dispersión eólica e hídrica, y constituyen un peligro en las zonas aledañas a éstos, provocando la contaminación de suelos y cuerpos de agua.

Los elementos asociados a los minerales explotados son variados y es común que su depósito en el suelo cause contaminación (Alloway 1995). En México los elementos potencialmente tóxicos (EPT) más comunes son: arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, cobalto, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio, vanadio y zinc (DOF, 2007; Gutiérrez-Ruiz y Moreno-Turrent, 1995; USEPA, 2007a).

Los jales, contienen concentraciones relativamente altas de estos metales y metaloides comparados con las concentraciones de un suelo no contaminado, esta característica los convierte en residuos peligrosos.

En el caso de los jales mineros, la peligrosidad está relacionada con la toxicidad potencial, según el código CRETIB, la cual se debe a la presencia de elementos dañinos, que en su mayoría son iones metálicos o iones metaloides como arsénico y selenio.

Por otro lado, las industrias especializadas en el proceso de metales (metalúrgicas y siderúrgicas) emiten partículas de dimensiones nanométricas que son fácilmente transportables por el viento a grandes distancias, y en algún momento son depositadas en el suelo, éstas pueden causar problemas en la salud de la población (Volke *et al.*, 2005).

Para evaluar la afectación causada por EPT en un determinado sistema, se utilizan como niveles de referencia las concentraciones de EPT que se encuentran en el sitio de manera natural (valores de fondo naturales) en la zona donde se

ubica el área de estudio. Cuando las concentraciones de EPT en algún medio abiótico, que se cree que está contaminado, superan los valores de fondo naturales, éstas pueden representar un riesgo al ambiente o a la salud (Gutiérrez *et al.*, 2007).

Para saber si un suelo está contaminado se consultan los “niveles genéricos de referencia”. Estos valores están basados en el riesgo ecológico a la salud humana, y se supone que la concentración de los EPT está disponible al 100% (DOF, 2007).

Tanto los niveles genéricos de referencia como los valores de fondo, se basan en la determinación de la concentración total de los contaminantes, por lo que su principal función es servir de comparación para identificar los sitios afectados (DOF, 2007).

Sin embargo, la concentración total de EPT en suelos no es el mejor indicador del riesgo potencial que pueden representar ya que éstos deben encontrarse en formas disponibles para que puedan lixiviarse, contaminar otros medios o ser absorbidos por los organismos vivos (Gutiérrez *et al.*, 2007; Mingot *et al.*, 2011; Ruby *et al.*, 1999; Oomen *et al.*, 2002).

La Norma Oficial Mexicana 147 (DOF, 2007), establece los criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados con elementos potencialmente tóxicos; As, Ba, Be, Cd, Cr, Hg, Ni, Ag, Se, Tl, Va y sus compuestos inorgánicos, así como los criterios de remediación.

Los valores de referencia señalados en la NOM-147 (DOF, 2007) son los límites de EPT permisibles que implican un riesgo aceptable para suelos con diferente uso. Los valores de referencia se encuentran en la Tabla 1.

Cuando hay una población humana expuesta a estos EPT, se debe valorar el riesgo a la salud, para lo cual es necesario determinar la biodisponibilidad de los EPT. En la literatura se describen diferentes métodos para determinar la fracción bioaccesible.

Tabla 1. Concentraciones de referencia totales por tipo de uso de suelo (DOF, 2007)

<b>Contaminante</b>	<b>Uso agrícola, residencial, comercial [mg/kg]</b>	<b>Uso industrial [mg/kg]</b>
<b>Arsénico</b>	22	260
<b>Bario</b>	5400	67000
<b>Berilio</b>	150	1900
<b>Cadmio</b>	37	450
<b>Cromo hexavalente</b>	280	510
<b>Mercurio</b>	23	310
<b>Níquel</b>	1600	20000
<b>Plata</b>	390	5100
<b>Plomo</b>	400	800
<b>Selenio</b>	390	5100
<b>Talio</b>	5.2	67
<b>Vanadio</b>	78	1000

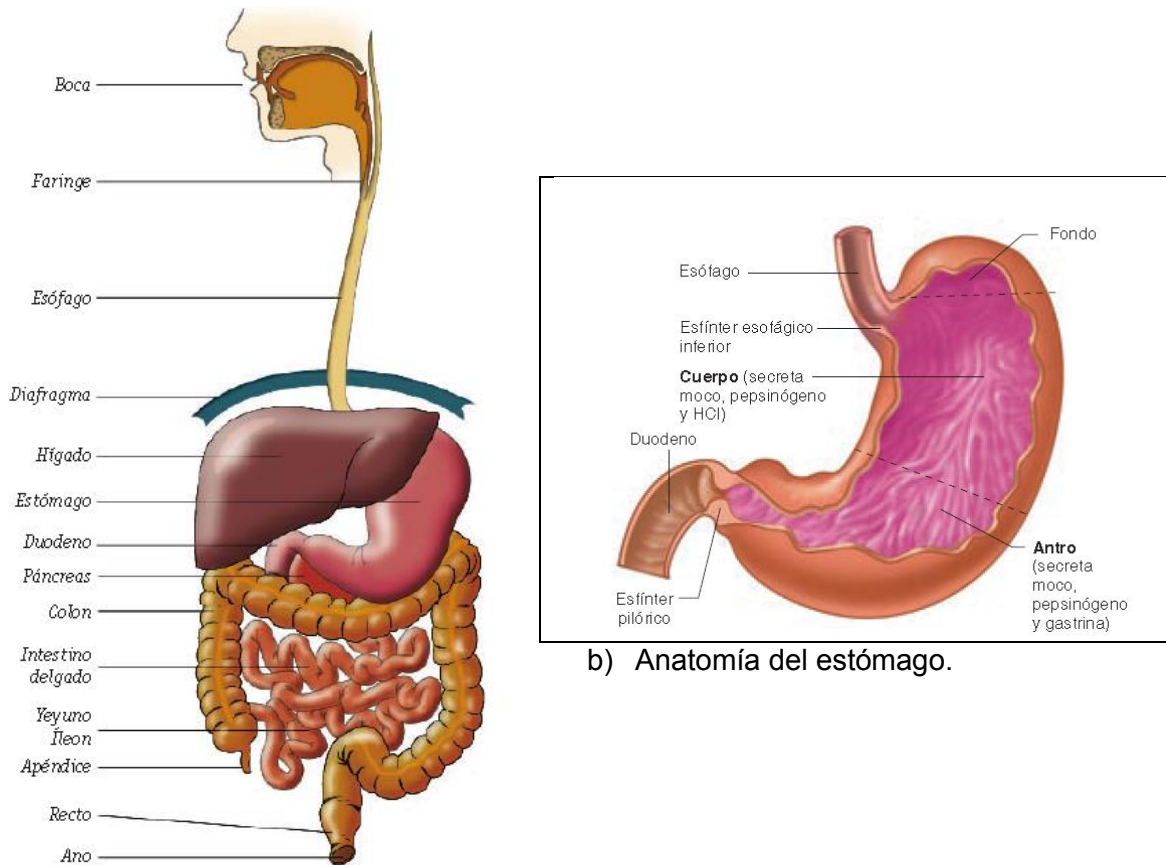
Nota: a) En caso de que se presenten diversos usos del suelo en un sitio, debe considerarse el uso que predomine. b) Cuando en los programas de ordenamiento ecológico y de desarrollo urbano no estén establecidos los usos del suelo, se usará el valor residencial

## II. 2 Aparato digestivo

Los órganos del aparato digestivo trabajan en conjunto, con un fin común, preparar el alimento ingerido para su absorción a través de la mucosa intestinal hacia el aparato circulatorio y el sistema linfático, a fin de que se distribuya por todo el organismo y sirva como nutriente a todas las células. Para que este proceso pueda realizarse es necesario modificar la composición física y química del alimento mediante el mecanismo de la digestión (Pérez y Fernández, 2015). La Figura 1 muestra el diagrama del aparato digestivo.

En el estómago se almacena y comienza la digestión de los alimentos. Las células en las paredes del estómago secretan pepsinógeno, ácido clorhídrico, H<sub>2</sub>O, factor

intrínseco y hormonas como la gastrina. La presencia del ácido clorhídrico tiene las funciones de 1) desnaturalizar las proteínas y 2) formar la enzima pepsina a partir del pepsinógeno, que se activa a pH ácidos. La pepsina dentro del estómago puede parcialmente digerir las proteínas (Cienfuegos, 2010).



a) Aparato digestivo

b) Anatomía del estómago.

Figura 1. Sistema digestivo (imágenes tomadas de Barrett *et al.*, 2010; Pérez y Fernández, 2015)

### II.3 Biodisponibilidad (BD) y bioaccesibilidad (BA)

En la literatura se encuentran diversas definiciones para el concepto biodisponibilidad (BD) según el campo de estudio. Por ejemplo, en farmacología y toxicología, el término se refiere a la disponibilidad sistémica de un xenobiotico después de su administración intravenosa u oral. Los científicos ambientales han tratado de adaptar esta definición cuando se considera la exposición humana a

contaminantes del suelo. Ruby *et al.*, (1996) y Kramer y Ryan (2000) sugirieron que la fracción BD es la cantidad de compuesto que es liberado del suelo a través del proceso de desorción en condiciones fisiológicas y que son transferidas al sistema circulatorio. Kramer y Ryan (2000) utilizaron el término de bioaccesibilidad (BA) para definir la cantidad total de contaminante que se libera del suelo, y está disponible para la absorción en el sistema circulatorio. Aunque estos conceptos son útiles, cuando se habla de contaminantes en el suelo y su interacción con la biota, éstos pueden ser un problema porque los microorganismos no tienen aparato digestivo o sistema circulatorio.

La norma ISO 11074 (ISO, 2005) define “la biodisponibilidad como el grado en el cual los agentes químicos presentes en el suelo pueden ser absorbidos o metabolizados por los humanos o receptores ecológicos o son disponibles para la interacción con los sistemas biológicos”. La BD es dependiente del tipo de contaminante y del organismo, así como de los siguientes aspectos: tiempo de exposición, transferencia del contaminante del suelo al organismo, su acumulación y los efectos subsecuentes (ISO, 2005). Esta definición puede ser aplicada para evaluar riesgo ambiental.

Por otro lado, la USEPA (2007a) define “la biodisponibilidad como la fracción de una dosis ingerida, que cruza el epitelio gastrointestinal y se distribuye en los tejidos y órganos”. Esta definición está dada para la evaluación de la biodisponibilidad oral de los metales en los suelos para el uso en la evaluación de riesgo de la salud humana. En la norma ISO/TC 17924 (2007) se encuentra una definición similar. Esto conduce a un supuesto defecto que el 100% de un contaminante es biodisponible y puede causar potencialmente un efecto adverso.

La biodisponibilidad puede evaluarse de dos maneras complementarias: (i) por métodos químicos (por ejemplo, métodos de extracción), que determinan la fracción disponible de una clase bien definida de contaminantes; y (ii) por métodos biológicos, en donde los organismos son expuestos al suelo para vigilar los efectos que pueden tener los contaminantes (Harmsen, 2007).

En la evaluación de riesgo a la salud humana, la ingesta de suelo puede ser la vía principal de exposición a muchos contaminantes del suelo. Por esa razón, es importante evaluar la biodisponibilidad de los contaminantes del suelo.

Una vez que la ingesta de suelo se ha llevado a cabo, los contaminantes pueden ser liberados al sistema circulatorio de manera parcial o total a partir de la matriz durante la digestión. La cantidad del contaminante que se movilizó por el jugo gástrico se define como la fracción bioaccesible. Ésta se considera la concentración máxima del contaminante disponible (Ruby *et al.*, 1996, 1999).

La BD de los EPT en suelos se determina utilizando animales *in vivo*, lo que requiere de grandes inversiones de tiempo y dinero, por lo que se han desarrollado métodos *in vitro* para determinarla (Basta *et al.*, 2007; Denys *et al.*, 2012; Drexler y Brattin, 2007; Juhasz *et al.*, 2007; Rodríguez *et al.*, 1999; Ruby *et al.*, 1993, 1996).

En numerosos estudios se han reportado correlaciones entre As, Cd y Pb (Drexler y Brattin, 2007; Juhasz *et al.*, 2007, 2010; Rodríguez *et al.*, 1999; Ruby *et al.*, 1996), en diferentes animales. Los animales usados para determinar la BD de los EPT, han sido perros (Groen *et al.*, 1994), conejos (Freeman *et al.*, 1993; Ruby *et al.*, 1993, 1996), monos (Freeman *et al.*, 1995; Roberts *et al.*, 2002) y roedores (Juhasz *et al.*, 2010; Ng *et al.*, 1998; Ruby *et al.*, 1993), pero la correlación que presentan los ensayos *in vitro* vs. *in vivo*, es mejor cuando se llevan a cabo en cerdos jóvenes y monos (Basta *et al.*, 2007; Casteel *et al.*, 1997; Juhasz *et al.*, 2007; Rodríguez *et al.*, 1999;). Las pruebas *in vivo* son costosas y el tiempo de estudio es relativamente largo, lo que limita su aplicación en evaluaciones de riesgo donde es primordial tener resultados estimatorios rápidamente. Los estudios *in vitro* permiten tener resultados aproximados para estimar indirectamente la BD de EPT en suelos contaminados y a la cual se le denomina bioaccesibilidad (BA). Se han validado métodos *in vitro* para evaluar la BA de Pb (Denys *et al.*, 2012; Drexler y Brattin, 2007; Wragg *et al.*, 2011), As (Rodríguez *et al.*, 1999), Cd (Denys *et al.*, 2012; Wragg *et al.*, 2011), y Sb (Denys *et al.*, 2012).



Los estudios *in vitro* se enfocan en la determinación de la BA oral de los EPT que es la vía de ingreso más común en los seres humanos (Oomen *et al.*, 2012). Estos estudios simulan los procesos fisiológicos, por ejemplo, tracto gastrointestinal, temperatura, la relación suelo-jugo digestivo, el tiempo del contaminante en el organismo, la acidez, el mecanismo de mezclado y los reactivos involucrados (Rodriguez *et al.*, 1999; Ruby *et al.*, 1996).

Dado que el la BA es uno de los factores que limitan la fracción biodisponible, ésta se puede usar como un parámetro para la evaluación de riesgo.

Actualmente, en la evaluación de riesgos por la ingesta de contaminantes asociados al suelo, está relacionada con la dosis oral específica del contaminante y los valores toxicológicos de referencia basados en la ingesta de agua o alimentos. Sin embargo, los contaminantes del suelo presentan diferentes procesos de desorción y complejación en el tracto gastrointestinal cuando la ingesta se lleva a cabo con agua o con alimentos. Esta evaluación puede dar valores de BA inexactos. Por tanto, se debe diseñar un método para estimar el riesgo con la matriz de interés, en este caso, el suelo (Basta *et al.*, 2007; Drexler y Brattin, 2007; Koch *et al.*, 2013; Le Bot *et al.*, 2010; Martínez-Sánchez *et al.*, 2013; Meunier *et al.*, 2010b; Oomen *et al.*, 2002; Ruby *et al.*, 1996; Van de Wiele *et al.*, 2007; Whitacre *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2009).

Los métodos *in vitro* actualmente disponibles (Basta *et al.*, 2007; Drexler y Brattin, 2007; Rodriguez *et al.*, 1999; Ruby *et al.*, 1996) para evaluar la BA de EPT en suelo, fueron diseñados bajo condiciones gastrointestinales pediátricas y simulan condiciones extremas de riesgo en salud.

Aunque los métodos *in vitro* se han enfocado primordialmente en la determinación oral de arsénico y plomo, los resultados se pueden extrapolar para otros metales y contaminantes (Dodd *et al.*, 2013; Hack y Selenka, 1996; Juhazs *et al.*, 2010; Kim *et al.*, 2002; Li y Zhang, 2013; Oomen *et al.*, 2002; Rodriguez *et al.*, 2013; Van de Wiele *et al.*, 2007).

En la evaluación de BA existen ciertos parámetros que deben controlarse, entre ellos están el tiempo de agitación, el pH del medio, la relación de suelo: extractante y la filtración.

En estudios previos (Drexler y Brattin, 2007; Ruby *et al.*, 1993, 1996) se ha sugerido que los parámetros *in vitro* que afectan fuertemente la correlación en experimentos *in vitro-in vivo* son pH, temperatura, tiempo de extracción y la concentración suelo:liquido. Estas variables fueron sistemáticamente evaluadas para encontrar la mejor combinación que proporcionara la mejor correlación con los ensayos *in vitro* e *in vivo*.

## II. 4 Variables que influyen en el método de bioaccesibilidad

### II.4.1 Temperatura

Drexler y Brattin, (2007) llevaron a cabo los experimentos de BA a 20 y 37°C. Aunque algunas muestras tuvieron una ligera dependencia con la temperatura. Por ejemplo, se observó una mayor concentración extraída de Pb a 37°C que a 20°C. En general, las diferencias encontradas no fueron significativas; sin embargo, para ser consistentes con los estudios previos, la temperatura de trabajo adoptada fue de 37°C, por ser la temperatura promedio del ser humano.

### II.4.2 Tiempo

Washington *et al.* (2001) reportan un tiempo promedio de una hora, para que el estómago de un humano quede vacío después de haber ingerido alimentos. Smith *et al.* (1993) realizaron un estudio en niños sanos señalando que el tiempo de vaciamiento gástrico ocurre aproximadamente entre 54 y 68 minutos. Por otro lado, Drexler y Brattin (2007) midieron la concentración de plomo con diferentes tiempos de extracción (1, 2 y 4 horas). No encontraron una diferencia significativa entre una y dos horas. La variación encontrada con tiempo de extracción de cuatro horas fue menor al 10% comparada con los tiempos de extracción de 1-2 horas. El tiempo de reacción adoptado fue de una hora para minimizar el tiempo de análisis,

además de ser el tiempo más cercano a los estudios fisiológicos de vaciamiento gástrico.

#### II.4.3 Agitación

El grado de agitación de un sistema *in vitro* puede influir en la velocidad y grado de solubilidad de los EPT del material a analizar. Si la muestra se acumula en el fondo, el área superficial de la muestra es reducida. La agitación puede afectar el espesor de la capa de difusión o la velocidad de producción de superficie. El método de agitación elegido debe maximizar el contacto del fluido gástrico simulado con la muestra, pero debe minimizarse la contaminación con dispositivos adicionales, por ejemplo, por la barra magnética o la reducción del tamaño de partícula (Drexler y Brattin, 2007).

#### II.4.4 Cantidad de muestra (masa) y volumen de fluido gástrico simulado

La relación sólido:fluido que se usa en experimentos de BA es 1:100 (muestra de suelo:fluido gastrointestinal simulado en masa). Se usa para aumentar los efectos de disolución del metal que se han observado en estudios previos donde las relaciones usadas son 1:5 y 1:25. Para aumentar la reproducibilidad, la masa del material y el volumen de fluido extractante fueron aumentando para reducir la variabilidad debido a la heterogeneidad de una muestra pequeña y a los errores de ponderación de los materiales de prueba. Las pruebas realizadas con una variedad de materiales de referencia no mostraron una variación significativa (dentro  $\pm 1\%$  de los medios de control) en las pruebas *in vitro* cuya relación usada es 1:500 (0.2 g de suelo: 100 mL de fluido GI) (Drexler y Brattin 2007).

Se estableció la relación 1:100 (suelo:fluido gastrointestinal simulado) según un estudio de la EPA que considera que es la mayor cantidad que un niño entre 2 y 3 años puede ingerir y la mínima cantidad de muestra factible (US EPA, 1994).

#### II.4.5 pH

El intervalo de pH en la fase gástrica del humano comprende de 1-4 en condiciones de ayuno y este valor puede aumentar hasta cinco cuando se han ingerido alimentos. En experimentos *in vitro* previos, se han usado diferentes valores de pH, desde 1 a 2.5 (Buckley, 1998; Gasser *et al.*, 1996; Mercier *et al.*, 2000; Rodriguez *et al.*, 1999; Ruby *et al.*, 1996). Para evaluar los efectos de pH para determinar la BA, Drexler y Brattin (2007) analizaron diferentes sustratos a diferentes valores de pH, 1.5, 2.5 y 3.5. Los resultados demuestran que este parámetro es el más sensible de los expuestos anteriormente. Encontraron que ocurre una variación significativa por arriba de un valor de pH de 2.5.

El valor de pH en la fase gástrica elegida es de 1.5 ya que permite hacer mejores predicciones para la estimación de BA. Este valor de pH es particularmente importante durante los análisis en residuos minero-metalúrgicos que tienden a exceder la capacidad de amortiguación de la glicina y aumentar el valor de pH de la solución extractante según el tratamiento que haya recibido el residuo (Drexler y Brattin, 2007).

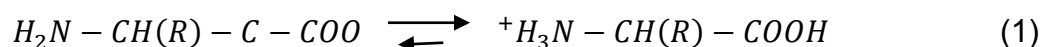
#### II.5 Estudios reportados para la validación de los métodos de bioaccesibilidad

Un requisito esencial para ser aceptado como un método *in vitro*, es que debe correlacionarse con la biodisponibilidad relativa (*RBA*, por sus siglas en inglés, *BDR* en español) determinada en ensayos biológicos. A través de estas correlaciones las ecuaciones de regresión de *RBA* (*BDR*) vs. *IVBA* (*in vitro bioaccessibility assay*) son usadas para predecir la *RBA* a partir de la *IVBA*, (Drexler y Brattin, 2007; Whitacre *et al.*, 2013).

Existen una serie de pruebas de *IVBA* que se han reportado en la literatura y que han sido estudiadas ampliamente. Las usadas con más frecuencia son la *PBET* (*Physiologically Based Extraction Test*, Ruby *et al.*, 1996), el método *IVG* (*In vitro Gastrointestinal*, Rodriguez *et al.*, 1999), el *UBM* (*Unified BARGE Method*,

*Bioaccessibility Research Group Europe*, Denys et al., 2012) y el método *RBALP*<sup>1</sup> (*Relative Bioavailability Leaching Procedure*, Drexler y Brattin, 2007) que fue desarrollado específicamente para evaluar plomo en suelos. Los métodos *PBET*, *IVG* y *RIVM* usan medios de extracción que imitan las condiciones fisiológicas del sistema gastrointestinal del ser humano, mientras que el *RBALP* utiliza únicamente el pH fisiológico del estómago y una solución amortiguadora de glicina como medio de extracción. Es decir, no simula las condiciones en el intestino.

Los aminoácidos, como la glicina, contienen un grupo carboxílico (-COOH) y un grupo amino (-NH<sub>2</sub>), por lo que su estructura en solución acuosa en función del pH es iónica. El grupo carboxílico pierde un protón, dando lugar a un ion carboxilato y el grupo amino se protona dando lugar al ion amonio, denominado ion dipolar o zwitterión (Wade, 2004):



Como los aminoácidos contienen las formas ácidas (-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>) y básica (-COO<sup>-</sup>), son anfóteros, tienen propiedades ácidas y básicas. La forma predominante del aminoácido depende del pH de la disolución. En una disolución ácida, el grupo -COO<sup>-</sup> se protona y se obtiene el grupo -COOH, y la molécula tiene carga positiva neta (Figura 1). Si el pH aumenta, el grupo -COOH pierde su protón aproximadamente a pH=2. Este punto corresponde a la primera constante de disociación ácida, pKa<sub>1</sub>. Si el pH sigue aumentando, el grupo NH<sub>3</sub><sup>+</sup> pierde su protón a un pH entre 9 y 10, este es el pKa<sub>2</sub>, segunda constante de disociación ácida. Por encima de este pH, la molécula tiene carga neta negativa (Wade, 2004).

En la Figura 2 se presentan la curva de valoración de la glicina. La curva comienza donde la glicina se encuentra completamente en su forma catiónica. A pH=2.3, la mitad de la forma catiónica se ha transformado en la forma zwitteriónica, es decir,

---

<sup>1</sup>*RBALP* también se le nombra de cuatro formas distintas; *SBRC* (*Solubility and Bioavailability Research Consortium*), *SBET* (*Simple Bioaccessibility Extraction Test*) e *IVBA* (*In vitro Bioaccessibility Assay*)

se encuentra como 50% catión y 50% zwitterión, por lo tanto, el par  $-\text{COOH}/\text{COO}^-$  puede servir como un tampón amortiguador en la región de pH cerca del valor de  $\text{pK}_{a1}$  (rectángulo rosado). A  $\text{pH}=6$ , prácticamente toda la glicina se encuentra en la forma zwitteriónica. A  $\text{pH}=9.6$ , la mitad de su forma zwitteriónica se ha transformado en la forma básica. A partir de este gráfico se puede ver que la glicina está mayoritariamente en la forma catiónica a valores de pH inferiores a 2.3, en la forma aniónica a valores superiores a 9.6 y en la forma zwitteriónica a valores entre 2.3 y 9.6. Variando el pH de la solución se puede controlar la carga de la molécula (Wade, 2004).

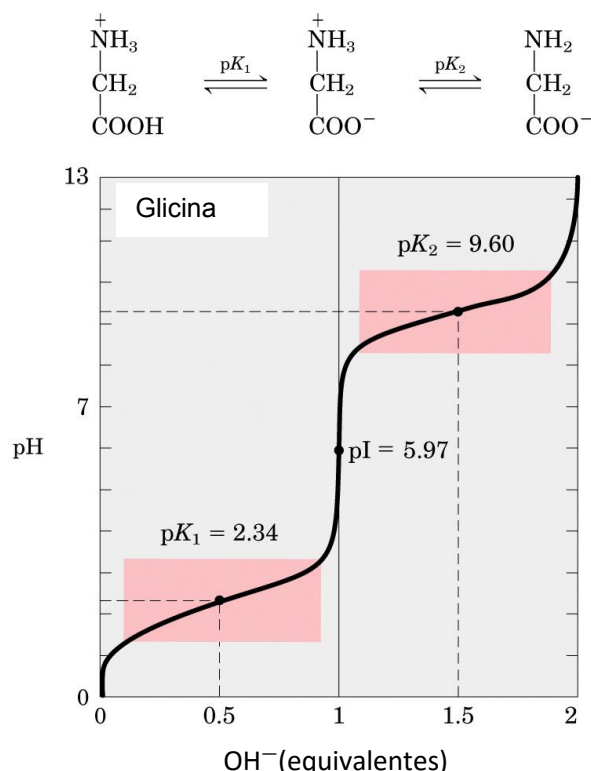


Figura 2. Curva de valoración de la glicina. El pH controla la carga de la glicina, carga positiva por debajo de  $\text{pH}=2.3$ ; aniónica por encima de  $\text{pH}=9.6$ , y zwitteriónica entre 2.3 y 9.6. El pH isoeléctrico es 6.0 (Wade, 2004)

Gracias a sus grupos funcionales, los aminoácidos; en este trabajo la glicina, son compuestos amortiguadores capaces de aceptar o ceder protones, tienen la capacidad de resistir cambios en su pH cuando se añade una sustancia ácida o básica (Wade, 2004).

En la mayoría de las investigaciones realizadas para evaluar la BA, el método de la glicina (*SBRC*) únicamente contempla la fase gástrica (FG) (Koch *et al.*, 2013; Meunier *et al.*, 2010a,b; Mingot *et al.*, 2011; Rodrigues *et al.*, 2013; Smith 2008; USEPA, 2007b). En México, la norma oficial mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 (DOC, 2007) establece este método para la determinación de BA de Pb en suelos en la FG. Sin embargo, Juhasz *et al.* (2009a) reportan las condiciones experimentales para evaluar la BA en la fase intestinal por el método *SBRC*.

Todos estos métodos mencionados anteriormente, presentan las correlaciones de biodisponibilidad y bioaccesibilidad para ciertos elementos; plomo y arsénico son los más estudiados.

El método *SBRC* (*Solubility and Bioavailability Research Consortium*) fue diseñado usando ciertas condiciones que produjeran datos de BA *in vitro* las cuales pudieran correlacionar con mediciones *in vivo* de BD de plomo. Se han hecho comparaciones de ensayos *in vitro* e *in vivo* que indican que este método puede proporcionar buenas predicciones de la BD de arsénico (Bradham *et al.*, 2011; Juhasz *et al.*, 2007, 2009b).

Drexler y Brattin (2007) llevaron a cabo la validación del método *SBRC*, con uso de glicina, para estimar la BA relativa de plomo en muestras de suelo. Los resultados indican una fuerte correlación ( $r^2 = 0.924$ ,  $p < 0.001$ ) entre la biodisponibilidad relativa (RBA - o BDR), con cerdos y la bioaccesibilidad *in vitro* (IVBA) en fase gástrica, ver Figura 3.

Juhasz *et al.* (2007) llevaron a cabo una comparación entre los métodos *in vivo-in vitro* para evaluar la BD de As en suelos contaminados usando el método *SBRC* (*Solubility and Bioavailability Research Consortium*) descrito por Drexler y Brattin, (2007) para determinar la BA de Pb. Los resultados mostraron que la correlación entre la BA y BD de As fue significativa ( $r^2 = 0.92$ ,  $p = 0.01$ ) proporcionando una buena predicción de la BD de As *in vivo* (Figura 4).

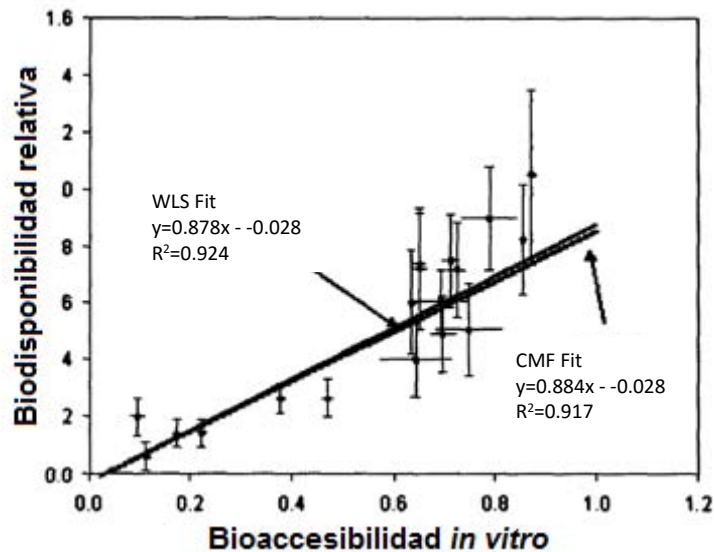


Figura 3. Biodisponibilidad relativa con cerdos de Pb en función de la bioaccesibilidad *in vitro* (IVBA) usando el método SBRC, en fase gástrica. Comparación de los métodos de correlación: de mínimos cuadrados (WLS) y de distribución Chi-cuadrada (CMF) (Drexler y Brattin, 2007)

Por otro lado, Juhasz *et al.* (2010) determinaron la BDR (*RBA*, en inglés) de cadmio usando varias metodologías *in vitro* (*SBRC*, *IVG*, *PBET* y *DIN*, *German Institute for Standardization*), en la fase gástrica e intestinal (Figura 5). Los coeficientes de correlación de Pearson obtenidos con el método *SBRC* fueron en la fase intestinal de  $r=0.897$  ( $(\%)BDR_{FI}=(0.991) SBRC-I(\%)-51.388$ ), y en la gástrica de  $r=0.761$  ( $(\%)BDR_{FG}=(1.522) SBRC-G(\%)-50.842$ ). Para evaluar la BDR Juhasz *et al.* (2010) realizaron las mediciones de concentración de Cd en el riñón, hígado, y riñón más hígado de la especie estudiada.

Es evidente de la Figura 5 que la correlación con la fase intestinal es casi de 1:1, es decir la pendiente es muy cercana a 1, mientras que en la fase gástrica se extraen mayores concentraciones que las de *RBA* (BDR). Esto es el caso para todos los EPT y, a diferencia del Cd, para Pb y As, los coeficientes de correlación en general son mejores con el método gástrico que con el método intestinal. Por esta razón se ha elegido al método de BA en fase gástrica para las determinaciones en la norma mexicana, para luego correlacionar estos valores con la BDR, que son los valores reales de biodisponibilidad (DOF, 2007).



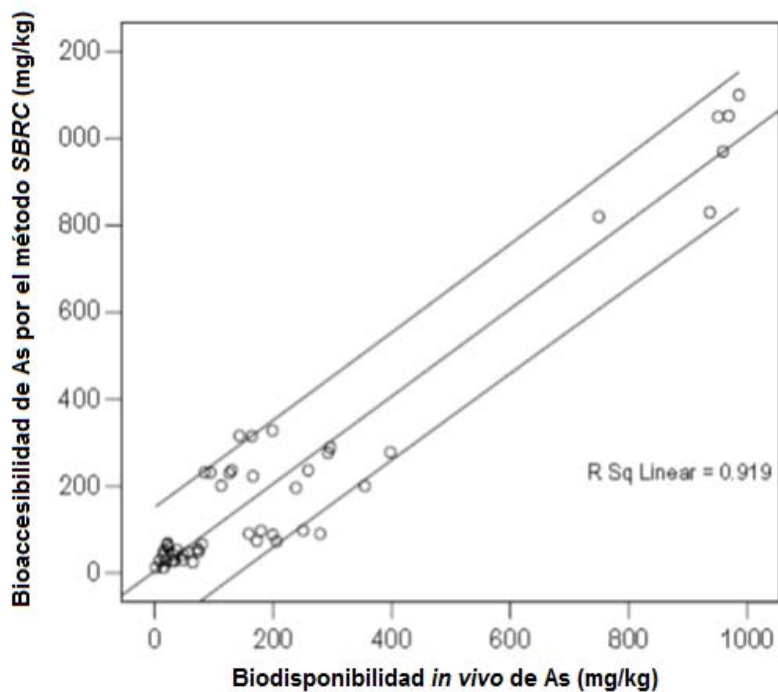


Figura 4. Correlación entre la BA y la BD de As del método SBRC en la fase gástrica.  $BD=0.93 \times BA + 14.19$  (mg/kg);  $r^2= 0.92$  (Íd, 2007)

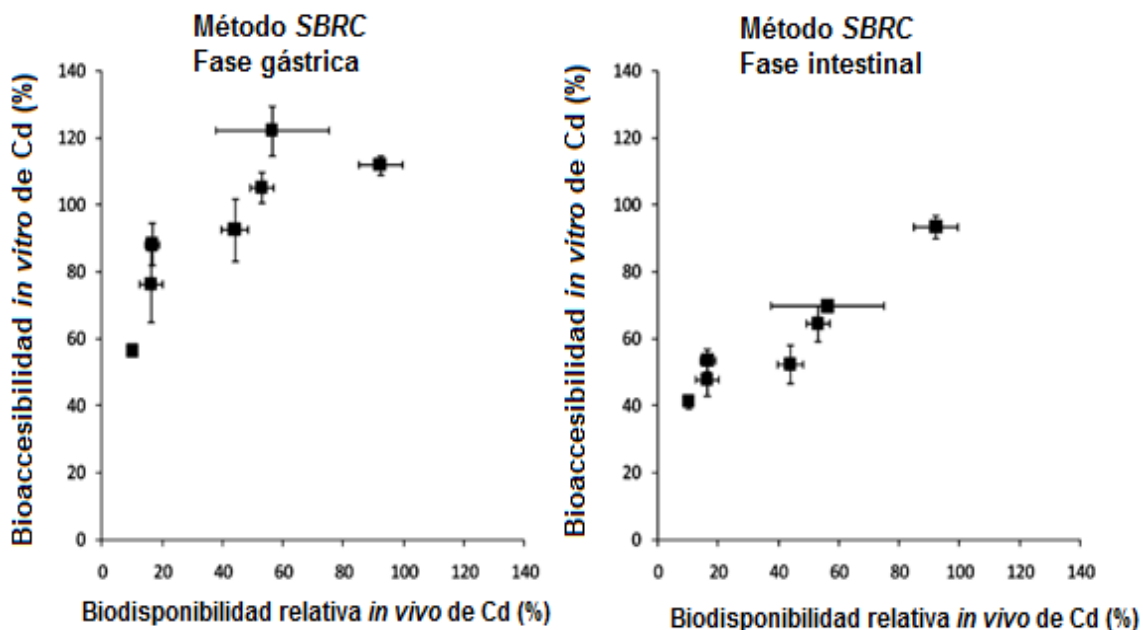


Figura 5. Correlación entre la BD (en muestras de hígado y riñones de ratones) y BA (método SBRC) en la FG y FI para el Cd (Íd, 2010)

## II.6 Métodos de extracción simple reportados

Los métodos de extracción simple están compuestos por un reactivo simple y de fácil manipulación, y han sido ampliamente usados para estudiar el comportamiento fisicoquímico de los elementos del suelo. Estos métodos predicen la carencia o el exceso de elementos esenciales en el crecimiento de las plantas en el suelo, así como evalúan el daño de los metales en suelo hacia las plantas.

Los métodos de extracción simple pueden liberar especies específicas de los metales del suelo de acuerdo con sus características; su movilidad y fitodisponibilidad pueden ser evaluados. Estos métodos por lo general usan sales, ácidos diluidos, bases y agentes complejantes (Li y Zhang, 2013).

Los métodos diseñados para evaluar la bioaccesibilidad de EPT a pesar de que reducen costos en material, reactivos y tiempo al ser comparados con los experimentos de biodisponibilidad, aún siguen siendo de difícil manejo debido a que requieren materiales que en ocasiones no son fáciles de adquirir; por ejemplo, el método *SBRC* usa un equipo especialmente construido para llevar a cabo la extracción.

Se han evaluado varios métodos de extracción simple para conocer la concentración de metales extraídos del suelo y estimar la bioaccesibilidad y fitodisponibilidad (Cao *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 2015; Li y Zhang, 2013; Madrid *et al.*, 2008; Rodrigues *et al.*, 2013; Zapusek *et al.*, 2009). Se han usado ácidos inorgánicos [ $\text{HNO}_3$  (Rodrigues *et al.*, 2013; Takeda *et al.*, 2006),  $\text{HCl}$  (Dodd *et al.*, 2013; Cui *et al.*, 2015; European Committee for Standardization, 1994; Madrid *et al.*, 2007; Mercier *et al.*, 2002; Mingot *et al.*, 2011; Rasmussen *et al.*, 2008; Sutherland, 2002; Yang *et al.*, 2009)], un ácido orgánico [ácido acético (Houba *et al.*, 1996)], sales neutras [ $\text{CaCl}_2$  (Houba *et al.*, 1986; Li *et al.* 2013; Rodrigues *et al.*, 2013),  $\text{NaNO}_3$  (Pueyo *et al.*, 2004),  $\text{MgCl}_2$  (Takeda *et al.*, 2006)] y agentes complejantes [EDTA, DTPA (Li y Zhang, 2013; Takeda *et al.*, 2006)].

En 1993, Ruby *et al.*, evaluaron la BA de Pb y determinaron que el ácido clorhídrico es el componente más importante del tracto gastrointestinal que controla la disolución del Pb en la fase gástrica mientras que en la fase intestinal se lleva a cabo la readsorción, coprecipitación y procesos de complejación debido al incremento del pH. Por otro lado, durante la ingesta de alimentos la concentración de H<sup>+</sup> aumenta sustancialmente, esto produce cerca de dos litros de HCl por día con un pH cercano a uno (Schubert, 2005).

Por lo tanto, para el desarrollo de este trabajo se llevará a cabo la extracción simple usando ácido clorhídrico.

#### II.6.1. Extracciones simples con HCl

En la literatura se encuentran reportados varios trabajos donde se llevan a cabo extracciones simples usando ácido clorhídrico.

Mingot *et al.* (2011) evaluaron tres métodos de extracción para determinar la bioaccesibilidad de As en suelos de un área de recreación en Madrid. Los métodos que utilizaron fueron *PBET*, *SBRC* y HCl. Las condiciones de extracción con HCl fueron a una temperatura de 37°C, en agitación por una hora con una concentración de 0.07 M de HCl. En este estudio se encontró una correlación de  $r=0.776$  entre el método *SBRC* y HCl para la extracción de As.

Dodd *et al.* (2013) determinaron la bioaccesibilidad en muestras de polvo y en estándares de suelos. La bioaccesibilidad la evaluaron usando el método de la *SBRC* en la fase gástrica y una modificación del protocolo EN-71 (disolución de HCl 0.07 M a 37 °C, agitación por dos horas, relación de muestra (g) y volumen (mL) 1:2000). El análisis de regresión lineal entre el método *SBRC* versus el protocolo modificado EN-71 indica que los dos métodos son comparables, el modelo de la regresión lineal del conjunto de elementos los elementos analizados (As, Cd, Cu, Pb, Ni y Zn) fue el siguiente:

$$SBRC= 3.14 +0.950 EN-71; (r^2=0.919; p<0.001)_{RR} \quad (2)$$

$$SBRC=4.64 +1.08 EN-71; (r^2=0.851; p<0.001)_{HC} \quad (3)$$

Los laboratorios participantes en el análisis fueron los de la *Royal Roads University (RR)* y de *Exposure and Biomonitoring Division, Health Canada (HC)*.

Yang *et al.* (2009) estudiaron el comportamiento de ciertos EPT (As, Pb y Zn) provenientes de residuos mineros realizando extracciones simples. Usaron disoluciones ácidas y básicas para extraer los metales de interés. Los agentes extractantes fueron HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> y NaOH. En el estudio que realizaron, usaron diferentes concentraciones de HCl y con diferentes relaciones de suelo:disolución. De acuerdo con las diferentes concentraciones usadas, Yang *et al.*, (2009) señalaron que la extracción de metales se incrementó con el aumento de concentración del agente extractante. Los elementos extraídos en este trabajo fueron As, Pb y Zn.

Para el desarrollo de este trabajo se llevó a cabo la extracción simple usando una disolución de ácido clorhídrico siguiendo algunos de los parámetros señalados en el método *SBRC*. Por ejemplo, el pH=1.5, el tiempo de agitación y la relación suelo:agente extractante (1:100). El equipo de agitación fue sustituido por uno más simple, uno oscilatorio y la temperatura en la cual se llevaron a cabo las extracciones fue la del ambiente. Los metales y metaloides evaluados fueron As, Pb, Cu, Zn y Cd en muestras de suelos y residuos mineros con diferentes características.

## II. 7. Descripción de los sitios de estudio

Los sitios de estudio corresponden a dos zonas ubicadas en el centro y sur de la República Mexicana, que corresponden a una zona metalúrgica y a una zona minera (Figura 6).

### II.7.1 Zona minera

El distrito minero de Taxco se ubica al sur de la República Mexicana en la ciudad de Taxco de Alarcón en el estado de Guerrero. El área de estudio tiene una tradición minera que data de la época de la colonia, lapso durante el cual se han generado materiales de desecho que han ido constituyendo los actuales depósitos de jales. Los jales fueron durante mucho tiempo, colocados en las orillas de los ríos y en zonas que con el paso de los años han sido circundados por asentamientos humanos (Armienta *et al.*, 2003; Talavera *et al.*, 2005).

La mineralización aparece principalmente en vetas hidrotermales, minerales de recambio y *stockworks* alojados en piedra caliza, pizarra y esquisto. Los principales minerales de sulfuro en la zona son la pirita (10-15%), blenda (11%) y galena (4%). En las presas de jales de Taxco existe una gran variedad de minerales metálicos que son abundantes y complejos. Armienta *et al.* (2003), Romero *et al.* (2007, 2010) y Talavera *et al.* (2005), reportaron la composición mineralógica de las presas de jales en donde se realizó la toma de muestras para la realización de este trabajo de investigación. Los minerales con fases primarias están dominados por el cuarzo, fragmentos de roca, feldespatos, ferromagnesianos, pirita, galena, calcopirita, arsenopirita, magnetita, barita, calcita y esfalerita principalmente. Las fases secundarias constan de yeso, saponita, montmorilonita, calcocita, smithsonita, goetita y jarosita. Estos minerales secundarios juegan un papel importante en la retención de As y otros metales pesados.

### II.7.3 Zona metalúrgica

La zona metalúrgica de estudio se localiza en la parte oeste de San Luis Potosí. En este sitio operaron tres plantas metalúrgicas que producían cobre, arsénico y plomo. Cuando comenzaron las actividades metalúrgicas este sitio no estaba poblado pero, con el paso del tiempo, los alrededores se fueron poblando.

Actualmente existe un área residencial al este de las hoy plantas metalúrgicas inactivas (Romero *et al.*, 2008; Villalobos *et al.*, 2010).

Esta planta metalúrgica llevaba a cabo un proceso piro-metalúrgico, que consistía en someter a condiciones oxidantes controladas a los concentrados de sulfuros metálicos de As, Cu y Pb en hornos con temperaturas entre 1000 y 1300°C para la obtención de metales con valor comercial (Aragón-Piña *et al.*, 2000; Brown *et al.*, 2004).

Más de un siglo de actividades industriales en este sitio metalúrgico derivaron en la generación de residuos, cuya dispersión provocó la contaminación de los suelos con EPT (Romero *et al.*, 2008; Villalobos *et al.*, 2010), representando un riesgo potencial para la salud.



Figura 6. Mapa de ubicación de las zonas de muestreo (a) muestras de suelos de SLP y (b) presas de jales de Taxco, Guerrero, México (Google Earth, 2014)

## CAPÍTULO III Metodología experimental

### III.1 Muestreo

Para la realización del trabajo se contó con muestras de suelos contaminados por residuos minero-metalúrgicos y residuos mineros procedentes de los estados de San Luis Potosí y Guerrero, en México, como se mencionó en el capítulo anterior.

Se realizó un muestreo de jales mineros en Taxco, Guerrero, México, en el mes de noviembre de 2013. Se muestrearon tres presas de jales (“La Concha”, “El Fraile” y “Foster”), con diferentes grados de oxidación: presa de jales oxidado (color marrón), presa de jales con alteración no visible (color gris) y presa que presenta ambos tipos de jales (Figuras 7-10).

En lo que respecta a los jales grises y marrón (presas de jales “Foster” y “La Concha”) se cavaron zanjas de un metro para observar el perfil y tomar las muestras a distintas profundidades; de cero a cinco centímetros, de 5 a 50 cm, y de 50 a 100 cm. En la presa “El Fraile”, se tomaron las muestras de cada horizonte formado. Se recolectaron muestras de suelos de los alrededores de los jales, éstas fueron a una profundidad de 5 cm (DOF, 2015).

Estas distancias y localizaciones se basaron en el grado de oxidación que presentaba cada presa de jales y evaluar las diferencias de BA entre los jales que no presentaban signos visibles de alteración a los oxidados. La profundidad de las muestras de suelos fue de 0-5 cm, señalada por la norma mexicana NMX-AA-132-SCFI-2006 (DOF, 2015). Esta fue la parte más superficial y la que representaba el riesgo potencial a la salud.

En la Tabla 2 se reportan los datos de la ubicación de los puntos de recolección de cada una de las muestras de Taxco, Guerrero, México.

Además del muestreo realizado en el estado de Guerrero, se contó con diez muestras adicionales de jales grises y suelos de Taxco, que ya se encontraban en el Laboratorio de Geoquímica Ambiental (LGA) del Instituto de Geología de la



UNAM. Igualmente, las muestras de San Luis Potosí, ya se encontraban en el LGA. Eran muestras de suelos contaminados con residuos de las plantas metalúrgicas de cobre y arsénico, actualmente inactivas.

Tabla 2. Clave, ubicación y características de las muestras de jales y suelos de Taxco, Guerrero, México

Clave de la muestra	Coordenadas <i>UTM</i>		Característica de la muestra
	X	Y	Profundidad (cm)
<b>Presa de jales "La Concha"</b>			
<b>Perfil 1:</b>	432884	2050175	Perfil homogéneo, jales color marrón
P1-A			0-5 cm
P1-B			5-50 cm
P1-C			50-100 cm
<b>Perfil 2:</b>	432886	2050012	Perfil homogéneo, jales color marrón
P2-A			0-5 cm
P2-B			5-50 cm
P2-C			50-100 cm
<b>Suelo:</b>			Muestras de suelo, cercanas a un río.
SC1	432929	2050013	0-5 cm
SC2	432975	2050103	0-5 cm
<b>Presa de jales "El Fraile"</b>			
<b>Perfil 3:</b>	432807	2048351	Perfil heterogéneo, jales
P3A			0-30 cm. Material de relleno
P3B			30-80 cm. Jales color amarillo opaco
P3C			80- 100 cm. Jales color gris
<b>Perfil 4:</b>	432876	2048455	Perfil heterogéneo
P4A			0-40 cm. Material de relleno
P4B			40-180 cm. Jales color amarillo opaco
P4C			180-200 cm. Jales color gris
			<i>(continúa)</i>

Tabla 2. Clave, ubicación y características de las muestras de jales y suelos de Taxco, Guerrero, México (*continuación*)

Clave de la muestra	Coordenadas UTM		Característica de la muestra Profundidad (cm)
	X	Y	
<b>“Presa de jales El Fraile”</b>			
<b>Suelo:</b>			Muestras de suelo, cercanas a un río. hay mucha vegetación
SF1	433327	2048463	0-5 cm
SF2	433379	2048371	0-5 cm
<b>“Presa de jales Foster”</b>			
<b>Perfil 5:</b>	436966	2048702	Perfil homogéneo, jales color gris
P5A			0-5 cm
P5B			5-50 cm
P5C			50- 100 cm
<b>Perfil 6:</b>	436987	2048102	Perfil homogéneo, jales color gris
P6A			0-5 cm
P6B			5-50 cm
P6C			50- 100 cm

La presa de jales “La Concha” contenía jales oxidados (color marrón). En esta zona se realizaron dos perfiles de un metro y la toma de muestra se realizó a tres profundidades (0-5, 5-50, y 50-100 cm). Los suelos recolectados fueron a una profundidad de 0-5 cm (Figura 7).

En la presa “El Fraile”, sobre los residuos mineros se depositó una cubierta de material de relleno sobre los jales para reducir la dispersión de contaminantes, en el cual se podía apreciar el desarrollo de material vegetal (Figura 8). De los perfiles de la zona “El Fraile” a simple vista se observaron los distintos horizontes formados, el horizonte A era el material de relleno; el horizonte B eran jales oxidados y el horizonte C eran jales grises (Figura 9).



a)



b)



c)

Figura 7. Presa de jales “La Concha” (jales oxidados color marrón): a) perfil 1. b) sitio donde se tomaron las muestras de suelos SC1 y SC2, cercanas a un río. c) muestra de suelo SC2 (fotos tomadas en la presa de jales “La Concha” y sus alrededores, noviembre 2013, Taxco, Guerrero, México)

Los jales que pertenecían al “Foster”, eran jales grises, no presentaban signos de alteración visibles (Figura 10).





Figura 8. Presa de jales “El Fraile”, se puede apreciar la presencia de material vegetal (fotos tomadas en la presa de jales “El Fraile” y sus alrededores, noviembre 2013, Taxco, Guerrero, México)

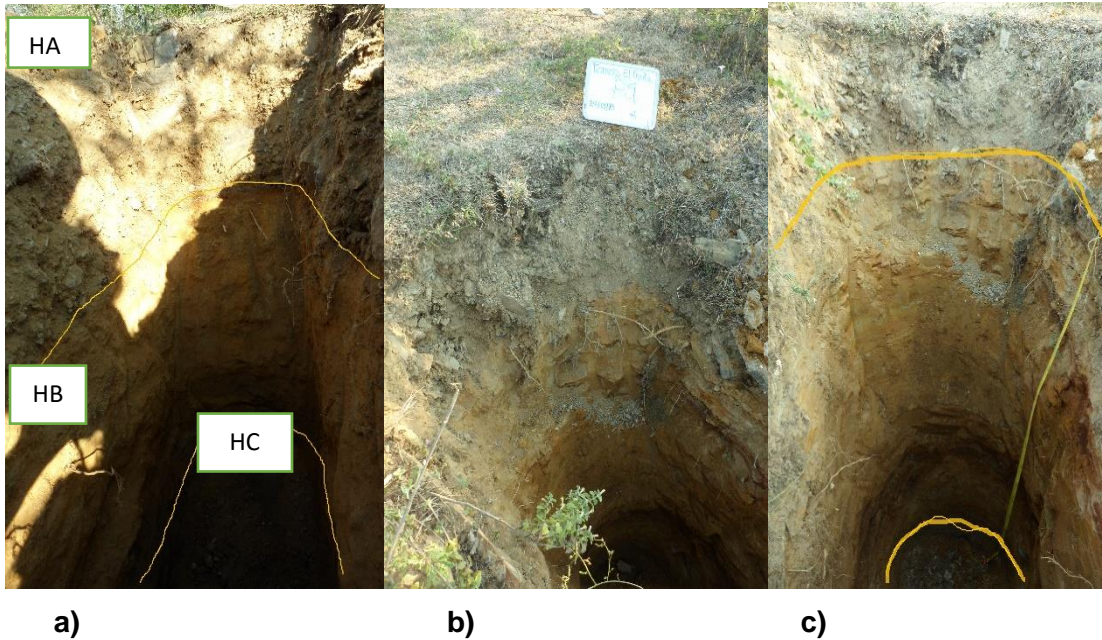


Figura 9. Presa de jales “El Fraile”: a) perfil 3, señalando sus horizontes (HA: horizonte A, HB: horizonte B, HC: horizonte C), b) perfil 4. c) Perfil 4, señalando sus horizontes. d) jales oxidados, T1 (fotos tomadas en la presa de jales “El Fraile” y sus alrededores, noviembre 2013, Taxco, Guerrero, México) (*continúa*)



d)

Figura 9. Presa de jales “El Fraile”: a) perfil 3, señalando sus horizontes (HA: horizonte A, HB: horizonte B, HC: horizonte C), b) perfil 4. c) perfil 4, señalando sus horizontes. d) jales oxidados, T1 (fotos tomadas en la presa de jales “El Fraile”, noviembre 2013, Taxco, Guerrero, México) (*continuación*)



Figura 10. Presa de jales Foster, Perfil 5 (foto tomada en la presa de jales “Foster”, noviembre 2013, Taxco, Guerrero, México)



## III.2 Consideraciones generales

### III.2.1. Materiales y equipo

Los reactivos utilizados fueron de tipo comercial, de la marca Sigma-Aldrich, grado analítico y se utilizaron sin purificaciones posteriores.

El agua fue doblemente desionizada (MilliQ).

El pH fue determinado con un electrodo Denver Instrument ultrabasic UB-10, para la calibración se usaron disoluciones estándar con pH de 4, 7 y 10 cuya marca es HANNA Instruments respectivamente. La conductividad eléctrica fue determinada con un equipo OAKTON CON 700, se usó una disolución de  $1413 \mu\text{S cm}^{-1}$  de la marca HANNA instruments HI 7031 para la calibración del equipo.

Los análisis de fluorescencia de rayos X (FRX) se realizaron en un equipo Thermo Scientific Niton FXL FM-XRF Analyzer, en modo suelo. Cada filtro realizó tres lecturas en tres puntos de la muestra, con un tiempo de análisis de 30 segundos por filtro. Para llevar un control de calidad fueron medidas la precisión y exactitud con estándares certificados ( $\text{SiO}_2$ , Montana-2710a, GBW, Till). Los límites de detección del equipo [mg/kg] para los EPT analizados fueron: As (5), Cd (6), Cu (10) Pb (5), Zn (8).

Las concentraciones extraídas de EPT fueron determinadas utilizando la técnica de espectrometría de emisión óptica con plasma inductivamente acoplado en un equipo *ICP-OES*-Perkin Elmer Optima 8300 DV, se utilizó un nebulizador Neb Gem Cone polímero, cámara ciclónica con un flujo de 22 mL/minuto. Los límites de detección del equipo [mg/kg] para los EPT analizados fueron: As (1.36), Cd (0.13), Cu (0.10), Pb (0.35), Zn (0.15). Las longitudes de onda a las cuales fueron analizados (nm): As (188.979), Cd (226.502), Cu (324.752), Pb (220.353), Zn (213.857).

### III.2.2 Preparación de muestras y parámetros generales

Las muestras fueron secadas a temperatura ambiente, se tamizaron por malla 10 (M10) para obtener tamaños de partículas menores a 2 mm para el análisis de pH y conductividad eléctrica, CE (Manual de Laboratorio de Geoquímica Ambiental, 2014).

Las muestras tamizadas por M10, se volvieron a tamizar por malla 60 (M60) para obtener partículas menores a 250  $\mu\text{m}$ , para llevar a cabo las extracciones de EPT por el método de SBRC y HCl, además de conocer las concentraciones totales con el equipo de FRX (Juhasz *et al.*, 2011; Ruby *et al.*, 1996; US EPA, 2004).

Para evaluar la bioaccesibilidad las muestras deben tener un tamaño de partícula menor a 250  $\mu\text{m}$  porque es el tamaño representativo que se adhiere en las manos de niños (Ruby *et al.*, 1996).

### III.2.3. Valores de pH y conductividad eléctrica, CE

Para determinar el pH y la CE se prepararon suspensiones de las muestras homogéneas tamizadas por malla 10 (menores a 2 mm), en una relación sólido:agua de 1:5, en agitación por una hora. Posteriormente se realizó la medición (ISO 10390, 2005; Sparks *et al.*, 1996; US EPA, 2004).

### III.2.4. Fluorescencia de rayos X, FRX

Las concentraciones totales de los EPT se determinaron por FRX en muestras secas. Todas las muestras analizadas fueron tamizadas por malla 60 (tamaño de partícula menor a 250  $\mu\text{m}$ ) siguiendo el método US EPA 6200 (US EPA, 2007c).

## III.2.5 Extracción de los elementos potencialmente tóxicos

### III.2.5.1 Bioaccesibilidad

El método que se llevó a cabo para determinar la bioaccesibilidad de EPT, es el *SBRC* reportado por Drexler y Brattin (2007). Se preparó una disolución de glicina 0.4 M a una temperatura de  $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ , se ajustó el pH a  $1.5\pm 0.1$  adicionando HCl 37 %. Las concentraciones agregadas de HCl variaron entre 0.3 y 0.4 M.

Se pesaron 0.500 g de suelo o jales, con tamaño de partícula  $<250\ \mu\text{m}$  (malla 60), se transfirió a un envase de polietileno de alta densidad. Se midieron 50 mL de la disolución de glicina y se transfirieron al envase que contiene la muestra. Se ajustó el pH a  $1.5\pm 0.1$  con HCl concentrado (37%). Posteriormente los frascos fueron colocados en un extractor construido para realizar el procedimiento para caracterizar la toxicidad del lixiviado (Figura 11) con control de temperatura de  $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ , con agitación de  $28\pm 2$  rpm durante una hora. Se evaluó el valor de pH a los 5, 10, 15 y 30 minutos, reajustando en caso necesario (dependiendo el tipo de muestras), generalmente con las muestras cuyo pH inicial era básico se adicionaron gotas de HCl concentrado (37%).

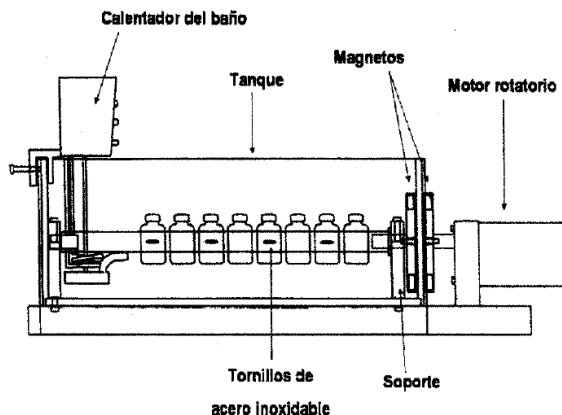


Figura 11. Equipo extractor construido para realizar el procedimiento para caracterizar la toxicidad del lixiviado del método *SBRC* (la imagen de lado izquierdo fue tomada de DOF, 2007)



### III.2.5.2 Extracción simple

El método de extracción simple usado es una modificación del método de extracción secuencial presentado por Sparks *et al.*, (1996). La concentración de HCl que se usó fue de 0.1 M, pH inicial cercano a uno, pero el ajuste se realizó para un valor de pH de 1.5. Para las muestras de suelos y jales que presentaron pH ácido, la concentración de la disolución de HCl usada fue aproximadamente de 0.03 M, pH=1.3.

Se pesaron 0.500 g de suelo o jales, con tamaño de partícula <250  $\mu\text{m}$ ; se transfirieron a un envase de polietileno de boca ancha. Se midieron 50 mL de la disolución de HCl 0.1 M o 0.03 M y se transfirieron al envase que contiene la muestra. Las muestras fueron colocadas en un agitador oscilatorio a 300 rpm a temperatura ambiente por una hora. De la misma manera que en el método de la glicina (*SBRC*), el pH de la solución extractante fue evaluado a los 5, 10, 15 y 30 minutos y reajustado de forma que el pH de la solución no variase del intervalo de  $1.5 \pm 0.1$ .

### III.2.6 Filtración

Concluido el tiempo de agitación en ambos métodos de extracción, se tomaron 20 mL del extracto con una jeringa desechable, se filtró por membranas de nitrocelulosa de 0.05 y 0.45  $\mu\text{m}$ .

Para realizar la filtración con membranas de diálisis de 8kD, se preparó una disolución de HCl 0.03 M, se aseguró que el valor de pH de la disolución fuera de  $1.5 \pm 0.1$ . Se tomaron 50 mL de esta disolución y se transfirieron a un frasco de boca ancha. Posteriormente se tomó una alícuota de 10 mL del extracto, se agregó en la bolsa de diálisis que previamente fue lavada con abundante agua Milli-Q. Se introdujo la bolsa con la muestra a filtrar en el frasco con la disolución de HCl. Después de tres horas y media la membrana de diálisis fue retirada.

Las muestras filtradas se refrigeraron a una temperatura de 4°C hasta su cuantificación usando la técnica de emisión de plasma inductivamente acoplado (*ICP-OES*).

Todas las extracciones se realizaron por duplicado.

### III.2.7 Análisis estadístico

Para evaluar la variabilidad de los resultados en las cuantificaciones totales, se calcularon los coeficientes de variación (CV) a partir de los promedios y las desviaciones estándar para cada muestra. En las extracciones realizadas se calcularon las diferencias porcentuales relativas (DPR) a partir de la diferencia de concentraciones y el promedio de cada muestra. Los valores de CV y DPR, indicativos de la precisión de los resultados, se mantuvieron  $\leq 20\%$ , tal como lo sugiere la norma oficial mexicana correspondiente (DOF, 2007).

## CAPÍTULO IV Resultados y discusión

### IV.1. Valores de pH y conductividad eléctrica (CE)

En la Tabla 3 se presentan los resultados de pH y CE de todas las muestras de jales y suelos contaminados con residuos minero-metalúrgico en estudio.

Tabla 3. Resultados de pH y CE de cada una de las muestras (los suelos de Taxco están sombreados en color)

Muestra	pH	Conductividad eléctrica [ $\mu$ S/cm]
<b>Taxco</b>		
Presa de jales "La Concha" (jales marrón)		
P1-A	6.2	118.9
P1-B	6.3	83.1
P1-C	6.7	113.7
P2-A	6.9	61.3
P2-B	6.7	88.3
P2-C	6.8	162.2
SC1	6.1	138.3
SC2	6.4	78.4
Presa de jales "El Fraile" (jales variados)		
P3-A	7.0	155.6
P3-B	6.5	965.0
P3-C	4.4	1900.0
P4-A	7.0	145.4
P4-B	4.7	317.0
P4-C	5.4	1134.0
T1	3.5	1539.5

(continúa)

Tabla 3. Resultados de pH y CE de cada una de las (los suelos de Taxco están sombreados en color) (*continuación*)

Muestra	pH	Conductividad eléctrica [ $\mu$ S/cm]
SF1	6.6	46.4
SF2	6.2	62.6
Presa de jales "Foster" (jales grises)		
P5-A	6.3	834.0
P5-B	6.3	988.0
P5-C	6.4	911.0
P6-A	6.5	600.0
P6-B	6.5	627.0
P6-C	6.6	523.0
TJF-01	7.4	1056.5
TJF-02	8.0	681.0
TJF-03	7.8	1093.0
TSF-04	7.8	100.2
TSF-05	8.2	102.5
TSF-06	7.9	430.4
TSF-07	8.0	1025.0
TSF-08	8.2	170.7
TJF-09	3.4	1950.0
TSF-10	8.3	158.6
<b>San Luis Potosí (Suelos)</b>		
SLP 01	7.1	185.4
SLP 02	5.2	359.5
SLP 03	6.9	175.1
SLP 04	6.0	623.7
SLP 05	7.3	185.3
SLP 06	10.3	9.4
SLP 07	6.8	434.8
SLP 08	7.5	125.5
SLP 09	6.2	1670.5

Todas las muestras de jales y suelo de “La Concha” presentaron valores de pH cercanos al neutro, entre 6.1-6.9.

En su estado original, los jales mineros contienen sulfuros metálicos, en su mayor parte pirita que, con el paso del tiempo, con la interacción con el aire y la lluvia, se oxidan y generan drenaje ácido. Sin embargo, si se depositan en suelos que contengan minerales alcalinos como carbonatos, hidróxidos y aluminosilicatos, en cantidades suficientes para proveer capacidad de neutralización, éstos contrarrestarán el drenaje ácido producido por los jales (González-Sandoval *et al.*, 2008; Romero y Gutiérrez, 2010; Ruiz-López *et al.*, 2010). De acuerdo con los resultados obtenidos de pH cercanos al neutro, se puede inferir que existen minerales con capacidad de neutralización que han consumido la acidez generada por el intemperismo (oxidación) de los minerales de esta presa de jales (color marrón=oxidados) (González-Sandoval *et al.*, 2008; Gutiérrez *et al.*, 2007; Romero y Gutiérrez, 2010).

Las muestras de jales y suelos de esta zona, presentaron conductividades eléctricas bajas, en un intervalo de 83–162  $\mu\text{S cm}^{-1}$ , que indican que los sulfatos de metales solubles formados durante la oxidación de los jales han sido lixiviados fuera del sistema (Lizárraga-Mendiola *et al.*, 2009).

Con respecto a los jales de “El Fraile”, el pH y la CE de los horizontes fueron de 7 y 155  $\mu\text{S cm}^{-1}$ , respectivamente para el P3-A, y pH 7 y 145  $\mu\text{S cm}^{-1}$  para el P4-A. Los horizontes B presentaron valores de pH y CE de 6.5 y 965  $\mu\text{S cm}^{-1}$  para el P3-B, y 4.7 y 317  $\mu\text{S cm}^{-1}$  del P4-B. Los horizontes C (jales grises) presentaron un pH y CE de 4.4 y 1900  $\mu\text{S cm}^{-1}$  del P3-C y 5.4 y 1134  $\mu\text{S cm}^{-1}$  del P4-C, respectivamente.

De manera general, al descender en el perfil, el pH de los jales es más ácido y la CE aumenta. Esta tendencia puede deberse a que durante el proceso de oxidación del horizonte B, la generación de drenaje ácido disuelve los iones mayoritarios (sulfatos) presentes en el material, arrastrándolos a la parte inferior del perfil, elevando la CE del horizonte C. El aumento del pH en la zona superior,

con respecto a las inferiores no está muy claro, porque si se debiera a la presencia de material neutralizante en el suelo subyacente, deberían estar neutralizados todos los horizontes. Quizá el lavado de iones hacia abajo con agua pluvial, por un periodo muy prolongado produce también el lavado de protones dejando valores de pH menos ácidos o han habido esfuerzos remediadores agregando material de neutralización del pH en la superficie.

La muestra T1 son jales oxidados de color amarillo opaco, se encuentra al descubierto (“El Fraile”), en pendiente. El valor de pH y CE eléctrica que presentó la muestra es ácido, pH=3.5 y  $1540 \mu S cm^{-1}$ .

Los suelos aledaños a la presa de jales “El Fraile” presentaron pH cercano al neutro (pH= 6.6 y 6.2) y la CE es más baja que para las muestras de jales (CE= 46 y  $62 \mu S cm^{-1}$ ).

En la presa de jales “Foster”, los pH de las muestras fueron muy cercano al neutro, ~6.4. La conductividad eléctrica que presentaron las muestras se encontraron en un intervalo entre 988 y  $600 \mu S cm^{-1}$ . En este sitio no fue posible la toma de muestras de suelos debido a que el sitio se ha convertido en basurero.

#### IV.2. Fluorescencia de Rayos X

Los resultados de las concentraciones totales de las muestras analizadas se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4. Resultados de FRX, concentraciones totales [mg/kg] de los EPT (los suelos de Taxco están sombreados en color)

Elemento					
Muestra	As	Cd	Cu	Pb	Zn
<b>Taxco</b>					
Presa de jales “La Concha” (jales marrón)					
P1-A	2292	274	864	19907	39359
P1-B	2388	435	1124	22247	48246
P1-C	4095	544	1961	40525	57961
P2-A	2034	643	1226	20443	82824
P2-B	2650	793	1564	28521	75363

(continúa)

Tabla 4. Resultados de FRX, concentraciones totales [mg/kg] de los EPT (los suelos de Taxco están sombreados en color) (continuación)

Elemento					
Muestra	As	Cd	Cu	Pb	Zn
P2-C	2275	557	1328	28380	72075
SC1	2178	333	537	10072	38440
SC2	187	30	111	1292	3836
Presa de jales "El Fraile" (jales variados)					
P3-A	122	< LD	59	147	212
P3-B	2027	<LD	160	3453	885
P3-C	919	41	989	1934	4620
P4-A	193	<LD	101	388	625
P4-B	1224	<LD	100	2078	742
P4-C	1503	131	317	1899	15781
T1	1850	<LD	161	6205	450
FS1	1884	20	344	4208	1466
FS2	899	<LD	92	1561	1347
Presa de jales "Foster" (jales grises)					
P5-A	843	45	112	588	4709
P5-B	925	57	136	524	4208
P5-C	795	101	168	350	7658
P6-A	842	36	87	313	2796
P6-B	660	38	118	314	2564
P6-C	956	43	124	385	3092
TJF01	1400	330	394	703	28149
TJF02	1043	44	98	369	2839
TJF03	873	61	124	406	4416
TSF04	167	<LD	76	112	540
TSF05	141	<LD	82	78	355
TSF06	1009	26	91	628	2996
TSF07	2264	51	141	610	3907
TSF08	3318	43	129	916	4268
TJF09	1683	<LD	<LD	1434	948
TSF10	31	<LD	60	88	242
<b>San Luis Potosí (suelos)</b>					
SLP01	747	167	926	1058	6743
SLP 02	10601	264	1975	11100	3180
SLP 03	7342	406	29602	11659	9176
SLP 04	36860	594	3430	7978	5676
SLP 05	12390	1305	19733	10833	9572

(continúa)

Tabla 4. Resultados de FRX, concentraciones totales [mg/kg] de los EPT (los suelos de Taxco están sombreados en color) (*continuación*)

Elemento					
Muestra	As	Cd	Cu	Pb	Zn
SLP07	1620	82	5135	2921	1743
SLP 08	1645	98	6037	2993	1850
SLP 09	600235	39296	48732	211961	266084
Valores NOM-147 (DOF,2007)	22	37	-	400	-

La NOM-147 no señala al Cu y Zn como EPT pues se consideran macronutrientes; sin embargo, en altas concentraciones pueden causar problemas ambientales y a la salud (Grohnert *et al.*, 2015)

Los suelos recolectados presentan concentraciones superiores de los elementos As, Cd y Pb con respecto de los que establece la norma oficial mexicana, NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 (DOF, 2007).

Las muestras de jales grises (“Foster”), presentaron CE mayores a  $523 \mu\text{S cm}^{-1}$ , los jales oxidados presentaron una CE en el intervalo de  $83\text{-}162 \mu\text{S cm}^{-1}$ . Quizá esta diferencia se deba a la lixiviación de las sales de sulfatos producidas en los jales oxidados de las capas superiores.

### IV.3. Extracción de EPT

#### IV.3.1. Método de filtración

En la literatura se reportan distintos métodos de separación de la fracción disuelta (bioaccesible) de la sólida (no bioaccesible). Entre los más comunes están el uso de centrifugación y microfiltración, hasta la más sofisticada como la ultrafiltración (Cave *et al.*, 2003; Laird *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2015; Li y Zhang 2013; Martínez-Sánchez *et al.*, 2013; Meunier *et al.*, 2010a, b; Mingot *et al.*, 2011; Molina *et al.*, 2013; Oomen *et al.*, 2002; Ruby *et al.*, 1996; Schroder *et al.*, 2004).

Van de Wiele *et al.* (2007) reportaron los porcentajes de la fracción bioaccesible después de haber evaluado distintos métodos de separación; por centrifugación (3000 g), microfiltración ( $0.45 \mu\text{m}$ ) y ultrafiltración (5 kDa) por el método *RIVM* (de sus siglas en holandés *Rijks Instituut voor Volksgezondheid en Milieu*).



Encontraron que para Pb la fracción BA es menor cuando se usa ultrafiltración (3.5%), que cuando se usa microfiltración (22%) y centrifugación a 3000 x g (31.5%). El primer valor es muy cercano a las pruebas *in vivo* hechas por Maddaloni *et al.* (1998) en seres humanos adultos en las cuales encontraron que la fracción biodisponible fue del 2.5%.

En este trabajo de investigación se evaluó el uso de membranas con distinto tamaño de poro para separar la fase disuelta de la sólida (coloidal): de tamaño de poro de 0.45  $\mu\text{m}$  (indicada en el procedimiento de la norma mexicana), correspondiente a microfiltración, y de 0.05  $\mu\text{m}$ , correspondiente a nanofiltración. Se esperaba que las correlaciones entre los dos métodos de extracción a probar en este trabajo serían mejores con el uso de la membrana de 0.05  $\mu\text{m}$  al obtener una dispersión en los datos considerablemente menor debido a una mayor homogeneidad de la muestra “disuelta”. Además, al estar reduciendo el tamaño de poro en la filtración éste se asemejará al proceso de absorción de sustancias en la fase intestinal.

Para comparar los dos métodos de filtración se seleccionaron algunas muestras de suelos y jales, y se llevó a cabo la extracción simple, filtrando por cada una de las dos membranas. Los resultados obtenidos se presentan en la Figura 12.

Aunque en algunos casos no se encontraron diferencias significativas entre los dos métodos de filtrado ( $p < 0.05$ ), en muchos otros las diferencias fueron altamente significativas (Figura 12). Se pueden hacer dos observaciones muy relevantes para todos los casos de diferencias significativas:

- (1) La concentración medida en el filtrado a través de 0.45  $\mu\text{m}$  siempre fue mayor que aquella a través de 0.05  $\mu\text{m}$ . Esto sugiere que coloides menores a 450 nm que pasan la primera membrana contribuyen en la medición por *ICP-OES* del total “disuelto” de forma significativa y
- (2) La desviación estándar de los datos con la membrana de 0.45  $\mu\text{m}$  siempre fue considerablemente mayor que aquella con la membrana de 0.05  $\mu\text{m}$ , lo cual sugiere que la presencia de estos coloides suspendidos causa mayor

variabilidad en las mediciones por esta técnica, que la fase más disuelta a partir del filtrado a través de poro de 0.05  $\mu\text{m}$ .

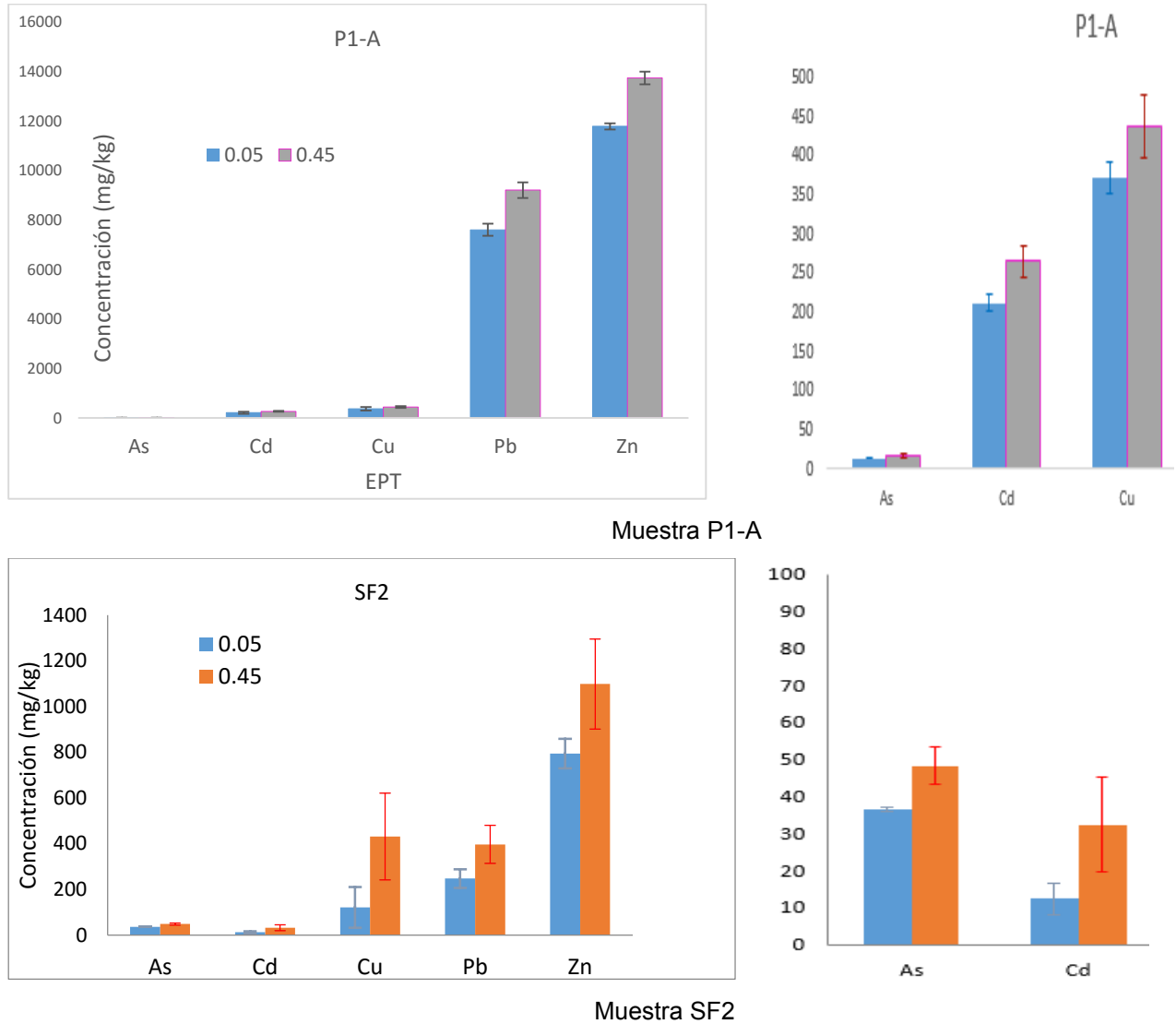
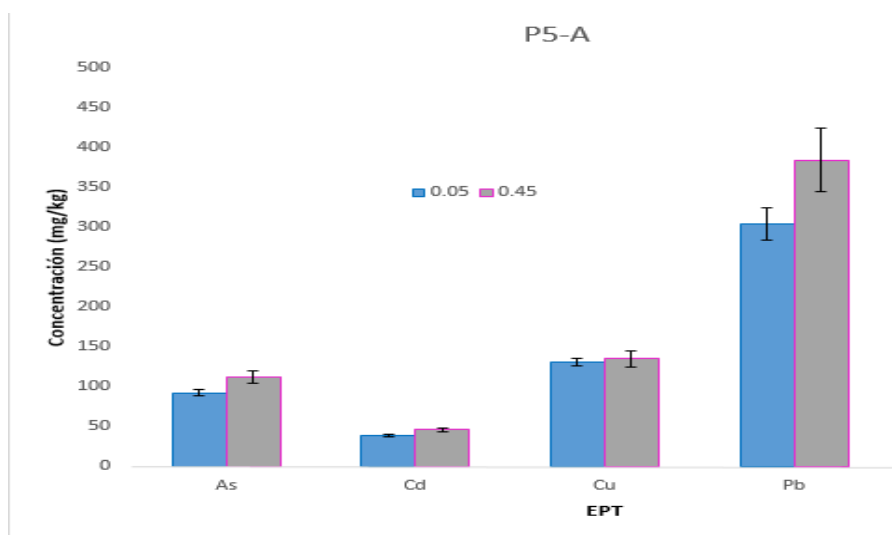
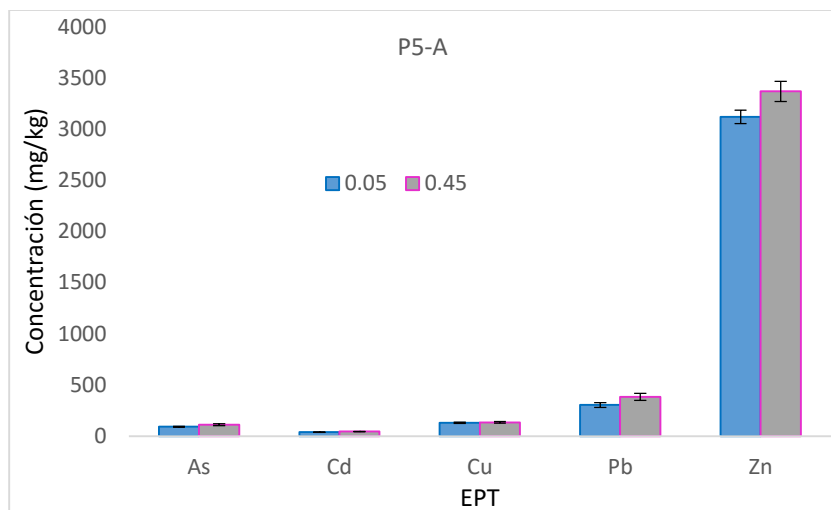


Figura 12. Resultados de las concentraciones de los EPT después de una extracción simple con HCl a pH 1.5 por una hora, con filtración a través de dos membranas de tamaño de poro diferente: 0.45  $\mu\text{m}$  y 0.05  $\mu\text{m}$ . En todos los gráficos se muestran las desviaciones estándar como barras de error (*continúa*)



Muestra P5-A

Figura 12. Resultados de las concentraciones de los EPT después de una extracción simple con HCl a pH 1.5 por una hora, con filtración a través de dos membranas de tamaño de poro diferente: 0.45  $\mu\text{m}$  y 0.05  $\mu\text{m}$ . En todos los gráficos se muestran las desviaciones estándar como barras de error (*continuación*)

Estos dos resultados justifican el uso generalizado de la membrana de 0.05  $\mu\text{m}$  en todo trabajo de extracciones de bioaccesibilidad y fue la membrana usada en toda la fase experimental subsiguiente.

En este proyecto también se evaluó el uso de membranas de diálisis con un tamaño de poro considerablemente menor y más cercano al que se espera en tejidos del intestino. Sin embargo, el uso de este tipo de filtración requiere de un mayor tiempo, pues es un método en el que el equilibrio de difusión completa de iones a través de la membrana es considerablemente mayor (3.5 horas), que el de

una hora en el método de extracción; y ésta última se encuentra lejos del estado de equilibrio de disolución de los minerales presentes al pH impuesto de 1.5. Por tanto, el método de filtración por membranas de diálisis no se pudo aplicar y se decidió que el uso de membranas de 0.05  $\mu\text{m}$  era suficiente para tener un mejor control de la fase disuelta.

#### IV.4. Bioaccesibilidad y extracciones simples

##### IV.4.1. Bioaccesibilidad

En la Tabla 5 se presentan los resultados de las concentraciones extraídas (mg/kg) de As, Cd, Cu, Pb, Zn. Los elementos se cuantificaron por *ICP-OES*.

Tabla 5. Concentraciones (mg/kg) bioaccesibles de los EPT estudiados en la fase gástrica por el método *SBRC* (con glicina). Entre paréntesis se muestran las desviaciones estándar de las mediciones (los suelos de Taxco están sombreados en color)

Elemento Muestra	As	Cd	Cu	Pb	Zn
<b>Taxco</b>					
Presa de jales "La Concha" (jales marrón)					
P1-A	11 (0.3)	215 (3)	221 (1)	7727 (111)	20797 (541)
P1-B	7(0.4)	294 (10)	261 (1)	9008 (254)	14120 (114)
P1-C	7 (0.2)	372 (12)	420 (11)	15762 (560)	14992(330)
P2-A	6 (0.3)	506 (9)	415 (8)	9047(122)	44297 (188)
P2-B	5 (0.3)	593 (46)	495 (34)	12457 (984)	16983 (677)
P2-C	6 (0.3)	536 (30)	463 (16)	12424 (595)	17350 (473)
SC1	94 (14)	234 (8)	166 (3)	4414 (44)	20553 (470)
SC2	27 (2)	32 (3)	32 (10)	1341 (259)	3094 (414)
Presa de jales "El Fraile" (jales variados)					
P3-A	13 (2)	2 (0.7)	12 (0.5)	21 (10)	170 (48)
P3-B	85 (25)	<LD	3 (1)	17 (10)	46 (7)
P3-C	92 (4)	<LD	410 (13)	857 (32)	154 (8)
P4-A	18 (3)	5 (0.3)	19 (2)	34 (14)	314 (23)
P4-B	3 (1)	<LD	5 (0.3)	67 (1)	79 (21)

(continúa)

Tabla 5. Concentraciones (mg/kg) bioaccesibles de los EPT estudiados en la fase gástrica por el método SBRC (con glicina). Entre paréntesis se muestran las desviaciones estándar de las mediciones (los suelos de Taxco están sombreados en color) (continuación)

Elemento	As	Cd	Cu	Pb	Zn
Muestra					
T1	12(0.6)	3 (0.2)	12 (2)	72 (0.8)	84 (24)
SF1	3 (0.4)	12 (0.3)	75 (3)	581 (22)	413 (34)
SF2	21 (0.4)	10 (0.2)	12 (1)	165 (16)	578 (28)
Presa de jales "Foster" (jales grises)					
P5-A	33 (6)	40 (0.2)	75 (1)	216 (3)	2984 (42)
P5-B	74 (8)	35 (2)	72 (5)	236 (15)	2572 (132)
P5-C	50 (3)	14 (0.2)	37 (0.5)	260 (0.2)	1068 (16)
P6-A	23 (2)	21 (0.02)	41 (0.5)	102 (0.7)	1690 (27)
P6-B	30 (7)	23 (1)	46 (1)	209 (7)	1563(40)
P6-C	157 (1)	8 (0.4)	26 (9)	238 (1)	630 (5)
TJF01	71 (1)	44 (0.2)	53 (2)	445 (20.12)	3402 (65)
TJF02	42 (4)	27 (1)	44 (2)	126 (1.6)	1755 (3)
TJF03	170 (103)	36 (0.5)	71 (0.5)	265 (40)	3065 (24)
TSF04	7 (0.3)	4 (0.02)	10 (0.5)	42 (0.7)	216 (9)
TSF05	12 (0.4)	3 (0.1)	13 (1)	46 (2)	188 (8)
TSF06	48 (0.1)	19 (0.08)	34 (0.1)	214 (11)	1517 (9)
TSF07	180 (5)	19 (1)	39 (2)	331 (16)	1606 (45)
TSF08	187 (4)	24 (1)	40 (3)	563 (45)	1761 (44)
TJF09	2 (0.2)	1 (0.1)	4 (0.6)	44 (2)	20 (1)
TSF10	5 (0.8)	2 (0.04)	15 (0.6)	46 (1)	100 (1)
<b>San Luis Potosí</b>					
SLP01	527 (0.4)	176	591 (2)	788 (9)	4649 (8)
SLP02	2045 (113)	102 (2)	521 (3)	4203 (84)	313 (1)
SLP03	3729 (36)	253 (3)	5621 (44)	9807 (42)	1057 (23)
SLP04	16969 (116)	364 (0.5)	1079 (24)	6585 (272)	1890 (20)
SLP05	7289 (405)	1165 (19)	9052 (274)	8515 (749)	4481 (119)
SLP06	15145 (872)	1675 (112)	8947 (387)	20739 (693)	51676 (2629)
SLP07	9526 (357)	2741 (112)	13061 (198)	11913 (372)	12933 (528)
SLP08	1160 (27)	86(0.2)	2795 (4)	2658 (18)	976 (8)
*SLP09	136231 (1211)	30676 (466)	1911 (306)	51527 (2983)	52310 (180)

\*SLP09, es una muestra de escoria vítrea

Se determinó la bioaccesibilidad de EPT en 42 muestras con diferentes características, entre las que se encuentran suelos contaminados por residuos de la minería, suelos contaminados por la industria metalúrgica y residuos mineros (jales grises y oxidados).

Los suelos contaminados por la industria metalúrgica, las muestras de SLP, fueron los que presentaron mayor concentración total de todos los EPT de interés y los valores más altos de concentraciones extraíbles de EPT. Esto se debe a que la industria metalúrgica al llevar a cabo la obtención y tratamiento de los metales de interés a partir de los minerales, provoca la oxidación de los demás elementos asociados a éste, lo que los hace más móviles y solubles, además de que los concentra.

En la zona minera, Taxco, los jales contienen EPT en sus diversas etapas de oxidación, desde sus estados más reducidos hasta su forma más oxidada. En los suelos de esta zona también se espera una oxidación cuantitativa, sin embargo, se observa un porcentaje menor de BA para el As (Tabla 7) cuando se comparan los resultados de ambas zonas (SLP y Taxco). Esto puede explicarse por la presencia de una amplia variedad de fases minerales que son las que juegan un papel importante en el proceso de retención de As y otros metales pesados (Armienta *et al.*, 2003, Drahotá *et al.*, 2009; Romero *et al.*, 2007, Romero y Gutiérrez, 2010, Talavera *et al.*, 2005).

La concentración BA de arsénico fue menor en las muestras de jales oxidados (marrón, P1 y P2) que en las muestras de jales reducidos (grises, P5 y P6). Esto sugiere la presencia de minerales secundarios que son estables en las condiciones ácidas en las que se llevó a cabo la extracción, por ejemplo, la K-jarosita, y sea esta la razón que el %BA de As en la FG es bajo (Tabla 5). Esto podría no ser el caso en la fase intestinal, en la que el pH sube a cercano al neutro.

Sin embargo, en los suelos de SLP los valores llegan hasta por encima de 60%, lo cual es indicativo de una mineralización de As muy diferente a la de las muestras de jales y suelos de Taxco, que posean una muy alta biodisponibilidad. Valdría la pena investigar dicha especiación con más detalle mineralógico en futuras investigaciones.

A diferencia del As, las concentraciones bioaccesibles de Cd son mayores en jales oxidados y suelos que en jales grises. Los altos valores de BA reflejan que el Cd no se encuentra fuertemente enlazado a una superficie mineral. Generalmente el cadmio está presente en la estructura cristalina de la esfalerita (ZnS) o como inclusiones en forma de sulfuro de cadmio (Moreno *et al.*, 2012). Romero *et al.* (2007) reportan la presencia de As y Cd sobre pirita y esfalerita en jales grises de Taxco. Juhasz *et al.* (2010) señalan que, debido a las condiciones ácidas de la fase gástrica, se produce la liberación de As, Cd y Pb debido a la disolución de las fases minerales, además de la formación de complejos estables. Los cloruros presentes en el HCl extractante juegan un papel importante en la formación de complejos de cloruro de cadmio, lo que lo hace más soluble y móvil (Environmental Agency, 2014; McLean y Bledsoe, 1992).

El cobre es el tercer metal de transición más importante biológicamente después del hierro y el zinc. Una deficiencia de este elemento incapacita al cuerpo para utilizar el hierro almacenado en el hígado. Sin embargo, en grandes cantidades, el cobre puede dañar el hígado y los riñones (Grihnert *et al.*, 2015; Rayner-Canham y Overton, 2010).

El cobre presenta gran afinidad por compuestos orgánicos solubles, como puede ser la materia orgánica presente en el suelo, que hacen que el cobre forme complejos estables y sea de fácil acceso al torrente sanguíneo (McLean y Bledsoe, 1992; Violante *et al.*, 2010).

Las muestras presentan valores totales de Cu que oscilan entre las 50 ppm y las 24 000 ppm, siendo los suelos de la zona metalúrgica los que presentan las

mayores concentraciones, seguido de jales oxidados > suelos de la zona minera > jales grises.

Al ser un elemento que forma complejos muy estables en presencia de ligantes orgánicos, esto hace que los valores de BA sean altos y que en altas concentraciones pueda traer efectos adversos al ser ingerido de manera accidental. En las muestras analizadas, la concentración bioaccesible calculada oscila entre un 5 % y un 75%, dependiendo de las características de la muestra. Por ejemplo, la muestra SLP09 a pesar de que presenta una alta concentración total de cobre, 43 578 mg/kg, la concentración BA obtenida fue de 1 911 mg/kg, que representa un 4%. Esta muestra tiene la característica de ser una escoria vítrea, lo que hace que el Cu esté encapsulado y sea poco bioaccesible (Tabla 5).

La galena (PbS) es el principal mineral primario portador de plomo, que se encuentra generalmente asociado a la pirita (FeS<sub>2</sub>). Así mismo, se ha reportado la presencia de minerales secundarios como la anglesita (PbSO<sub>4</sub>) y la beundantita (PbFe<sub>3</sub>(AsO<sub>4</sub>)(SO<sub>4</sub>)(OH)<sub>6</sub>) que limitan la movilidad del plomo en ambientes mineros (Davis *et al.*, 1993; Lizárraga-Mendiola *et al.*, 2009; MacLean *et al.*, 2013; Romero *et al.*, 2007).

En varias de las muestras de la zona minera (muestras de Taxco), los valores de BA de Pb en la fase gástrica son mayores en jales reducidos (grises – P5, P6) que en los jales oxidados (marrones – P1, P2), a pesar que la concentración total de Pb en jales grises es menor que la concentración total en jales oxidados. Estos resultados pueden deberse a la presencia de fases minerales en donde la sorción de Pb esté limitada (óxidos de Pb-Mn) o que el plomo se encuentre en su forma más disponible, como los carbonatos de plomo. Las especies de plomo que presentan altos valores de BA son carbonato de plomo, óxidos Pb-Mn, PbCl<sub>2</sub>, Pb(OH)<sup>+</sup>, PbO, fosfatos de plomo, óxido de Fe-Pb, PbSO<sub>4</sub> (MacLean *et al.*, 2013; Ruby *et al.*, 1999; US EPA, 2003).



La concentración de Pb BA en las muestras de suelo varía de una zona a otra, los valores bajos pueden estar influenciados por la presencia de fases minerales donde el Pb esté asociado fuertemente y/o sus fases minerales presenten un producto de solubilidad bajo.

La esfarelita (ZnS) es la principal especie mineral de zinc en los jales. Se encuentra asociada a la pirita, pirrotita y calcopirita (Moreno *et al.*, 2012). El zinc está considerado como un elemento potencialmente tóxico sólo en altas concentraciones. Las muestras de jales oxidados son las que presentan las más altas concentraciones totales de zinc. El porcentaje bioaccesible es muy variado, desde el 5% hasta el 70%.

La tendencia que se observa en todas las muestras en las que se muestrearon perfiles es que las muestras superficiales presentan las concentraciones más altas de bioaccesibilidad. La concentración extraída disminuye a mayor profundidad.

De acuerdo con los resultados observados, en los perfiles P3 y P4, las concentraciones BA en el horizonte B son menores respecto a las de los horizontes A y C. En donde se encuentra una mayor concentración BA es en el horizonte C del jal gris. Puede deberse a la lixiviación de los metales de los horizontes más superficiales o a la ausencia de fases de que pueden adsorber los metales y metaloides.

La muestra T1 presenta el pH más bajo (jales oxidado), las concentraciones BA de EPT que presenta esta muestra son más bajas que las que presentan las otras muestras de jales. Podría deberse a que, al presentar un pH ácido, los metales asociados ya se han lavado o también a la presencia de minerales, como la K-jarosita que controlan la movilidad de estas especies (McGregor y Blowes, 2002; Romero *et al.*, 2007).

#### IV.4.2. Extracciones simples

El objetivo de realizar las extracciones de EPT usando una disolución de HCl ajustando el pH de las extracciones a 1.5, fue conocer el grado de correlación entre el método descrito anteriormente con uno más simple y que pueda usarse como un método más sencillo para evaluar el riesgo de ingesta accidental de suelos o residuos de una zona altamente contaminada. Es importante mencionar que las concentraciones de HCl agregadas en ambos métodos fueron considerablemente diferentes. El método *SBRC* requiere una adición alta de HCl que cuando éste se utiliza por sí solo. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6. Concentraciones (mg/kg) resultado de las extracciones con HCl a pH= 1.5±0.1. Entre paréntesis se muestran las desviaciones estándar de las mediciones (los suelos de Taxco están sombreados en color)

Elemento Muestra	As	Cd	Cu	Pb	Zn
<b>Taxco</b>					
Presa de jales "La Concha" (jales marrón)					
P1-A	5 (1)	213 (5)	204 (3)	7165 (144)	20197 (418)
P1-B	<LD	292 (15)	242 (15)	8337 (482)	14227 (263)
P1-C	<LD	377 (14)	384 (5)	15549 (409)	15120 (156)
P2-A	2(0.76)	511 (1)	385 (10)	8571 (213)	42029 (387)
P2-B	<LD	605(32)	451 (14)	12067 (556)	17384 (478)
P2-C	<LD	561 (15)	439 (12)	12362 (417)	17805 (261)
SC1	36 (1)	213 (10)	158 (4)	3460 (730)	10507 (291)
SC2	21 (0.6)	32 (0.2)	35 (1)	1157 (92)	2684 (22)
Presa de jales "El Fraile" (jales variados)					
P3-A	8 (1)	2 (0.1)	13 (2)	12 (3)	79 (15)
P3-B	54 (3)	1(0.02)	7 (0.2)	12 (0.3)	42 (2)
P3-C	78 (6)	<LD	378 (32)	451 (28)	131 (8)
P4-A	17 (7)	6	16 (1)	31 (6)	267 (6)
P4-B	<LD (NA)	<LD	4 (0.3)	51 (0.35)	63 (6)
P4-C	89 (6)	84 (1)	138 (2)	1066 (21)	7330 (47)
T1	12 (0.35)	3 (0.2)	10 (3)	49 (0.4)	68 (2)
SF1	<LD	12 (0.5)	68 (2)	478 (8)	351 (2)
SF2	23 (0.2)	11 (0.7)	14 (2)	239 (55)	551 (29)

*continúa*

Tabla 6. Concentraciones (mg/kg) resultado de las extracciones con HCl a pH= 1.5±0.1. Entre paréntesis se muestran las desviaciones estándar de las mediciones (los suelos de Taxco están sombreados en color) (continuación)

Elemento Muestra	As	Cd	Cu	Pb	Zn
<b>Presa de jales "Foster" (jales grises)</b>					
P5-A	13 (1)	36 (0.4)	63 (0.5)	103 (3)	2568 (22)
P5-B	19 (1)	35 (0.7)	64 (1)	144 (3)	2495 (19)
P5-C	13(1.3)	10 (0.2)	24 (3)	176 (7)	751 (17)
P6-A	15(1)	16 (0.6)	46 (2)	56 (5)	1289 (71)
P6-B	25(3)	21 (0.5)	45 (3)	203 (34)	1443 (14)
P6-C	97 (2)	7 (0.3)	24 (2)	238 (4)	534 (13)
TJF01	34 (4)	42 (0.6)	44 (0.4)	365 (20)	3180 (100)
TJF02	23 (2)	27 (0.1)	37 (0.4)	98 (3)	1568 (10)
TJF03	42 (2)	33 (0.6)	61 (0.6)	149 (0.4)	2652 (40)
TSF04	6 (0.5)	4 (0.05)	9 (0.1)	32 (0.6)	200 (1)
TSF05	6 (0.4)	3 (0.01)	8 (0.3)	27 (2)	157 (4)
TSF06	28 (3)	19(0.3)	30 (1)	111 (0.6)	1335 (6)
TSF07	110 (3)	20 (0.5)	35 (1)	286 (19)	1411 (58)
TSF08	58 (5)	24 (0.001)	36 (0.2)	386 (35)	1524 (52)
TJF09	4 (2)	1 (0.1)	4 (1)	25 (0.02)	24 (7)
TSF10	3 (1)	2 (0.1)	18 (10)	41 (5)	62 (1)
<b>San Luis Potosí (suelos)</b>					
SLP01	432(7)	157 (4)	517 (4)	572 (16)	3594 (6)
SLP02	1573 (175)	85 (7)	419 (40)	3063 (181)	333 (32)
SLP03	2933 (136)	216 (12)	4575 (213)	8047(106)	973 (55)
SLP04	14349 (444)	326 (15)	1066 (47)	4399 (200)	1871 (40)
SLP05	6010 (70)	1109 (16)	7437(207)	6348 (207)	3450 (33)
SLP06	21687 (1239)	1685 (50)	9154 (278)	16358 (826)	49861 (2209)
SLP07	8572 (353)	2906 (125)	12549 (390)	4261 (435)	13558 (603)
SLP08	1108 (10)	94 (2)	2619 (6)	2629 (96)	951 (29)
SLP09	131110 (1367)	31439 (490)	1393 (285)	20853 (5567)	54463 (1638)

La Tabla 7 presenta el porcentaje bioaccesible de los EPT obtenidos en los dos métodos evaluados en esta investigación.

Tabla 7. Porcentaje bioaccesible de los EPT correspondiente al método de extracción evaluado (los suelos de Taxco están sombreados en color)

Elemento Muestra	As		Cd		Cu		Pb		Zn	
	HCl	Gly	HCl	Gly	HCl	Gly	HCl	Gly	HCl	Gly
<b>Taxco</b>										
Presa de jales "La Concha" (jales marrón)										
P1-A	0.2	0.5	77.6	78.3	23.7	25.5	36.0	38.8	51.3	52.8
P1-B	<LD	0.3	67.2	67.6	21.6	23.2	37.5	40.5	29.5	29.3
P1-C	<LD	0.2	69.3	68.5	19.6	21.4	38.4	38.9	26.1	25.9
P2-A	0.1	0.3	79.4	78.7	31.4	33.9	41.9	44.3	50.7	53.5
P2-B	<LD	0.2	76.3	74.8	28.8	31.6	42.3	43.7	23.1	22.5
P2-C	<LD	0.3	100.8	96.4	33.0	34.9	43.6	43.8	24.7	24.1
SC1	1.6	4.3	64.0	70.3	29.3	30.9	34.3	43.8	27.3	53.5
SC2	11.1	14.5	109.4	108.2	31.9	29.1	89.6	103.8	70.0	80.7
Presa de jales "El Fraile" (jales variados)										
P3-A	6.4	10.8	<LD	<LD	22.3	20.3	8.1	14.5	37.2	80.4
P3-B	2.7	4.2	<LD	<LD	4.4	2.1	0.3	0.5	4.7	5.2
P3-C	8.5	10.0	<LD	<LD	38.2	41.5	23.3	44.3	2.8	3.3
P4 A	8.8	9.2	<LD	<LD	15.4	18.9	8.1	8.7	42.8	50.3
P4-B	<LD	0.2	<LD	<LD	4.1	4.9	2.5	3.2	8.5	10.6
P4-C	5.9	11.0	64.3	61.9	43.5	45.8	56.1	61.8	46.4	43.9
T1	0.7	0.7	<LD	<LD	6.4	7.2	0.8	1.2	15.2	18.6
SF1	<LD	0.2	61.0	59.1	19.6	21.9	11.3	13.8	23.9	28.2
SF2	2.6	2.3	<LD	<LD	15.1	13.2	15.3	10.6	40.9	42.9
Presa de jales "Foster" (jales grises)										
P5-A	1.5	3.9	80.0	88.3	56.0	67.5	17.6	36.7	54.5	63.4
P5-B	2.1	8.0	61.6	61.7	47.1	53.0	27.5	45.1	59.3	61.1
P5-C	1.6	6.2	9.8	14.2	14.3	21.9	50.2	74.3	9.8	13.9
P6-A	1.8	2.7	43.5	56.7	52.7	47.5	17.8	32.6	46.1	60.4
P6-B	2.6	3.1	50.1	53.9	36.8	36.9	52.7	54.4	46.7	50.6
P6-C	14.6	23.8	17.7	21.6	20.3	22.2	75.6	75.7	20.8	24.6
TJF01	2.4	5.0	12.6	13.2	11.2	13.4	51.9	63.2	11.3	12.1
TJF02	2.2	4.0	60.4	60.3	37.8	45.2	26.4	34.1	55.2	61.8
TJF03	4.8	19.5	53.8	58.3	48.8	57.0	36.7	65.3	60.1	69.4
TSF04	3.4	4.5	<LD	<LD	11.5	13.0	28.7	37.0	37.1	39.9
TSF05	4.1	8.7	<LD	<LD	9.3	16.1	35.0	59.4	44.3	53.0
TSF06	2.8	4.7	72.5	73.6	33.0	37.9	17.7	34.0	44.6	50.6
TSF07	4.9	7.9	38.5	37.4	24.8	27.6	46.8	54.4	36.1	41.1
TSF08	1.8	5.6	55.3	55.2	27.5	30.7	42.1	61.5	35.7	41.3

(continúa)

Tabla 7. Porcentaje bioaccesibles de los EPT correspondiente al método de extracción evaluado (los suelos de Taxco están sombreados en color) (*continuación*)

Elemento Muestra	As		Cd		Cu		Pb		Zn	
	HCl	Gly	HCl	Gly	HCl	Gly	HCl	Gly	HCl	Gly
TJF09	0.2	0.1	<LD	<LD	<LD	<LD	1.7	3.1	2.5	2.1
TSF10	10.5	15.8	<LD	<LD	29.6	24.7	46.3	51.8	25.8	41.5
<b>San Luis Potosí</b>										
SLP01	57.9	70.5	94.3	105.7	55.9	63.8	54.1	74.5	53.3	68.9
SLP02	14.8	19.3	32.3	38.6	21.2	26.4	27.6	37.9	10.5	9.8
SLP03	40.0	50.8	53.2	62.5	15.5	19.0	69.0	84.1	10.6	11.5
SLP04	38.9	46.0	54.9	61.3	31.1	31.5	55.1	82.5	33.0	33.3
SLP05	48.5	58.8	85.0	89.3	37.7	45.9	58.6	78.6	36.0	46.8
SLP06	41.7	29.1	100.7	100.1	40.1	39.2	49.7	63.0	43.9	45.5
SLP07	43.0	47.7	111.4	105.1	28.1	29.3	22.7	63.5	41.0	39.1
SLP08	67.4	70.5	95.9	87.1	43.4	46.3	87.8	88.8	51.4	52.8
SLP09	21.8	22.7	80.0	78.1	2.9	3.9	9.8	24.3	20.5	19.7

Las concentraciones extraídas con HCl (pH 1.5) son muy cercanas a las obtenidas usando el método de la glicina. Para algunas muestras y elementos las concentraciones obtenidas con el método de la glicina son ligeramente mayores.

En las Figuras 13 y 14 (a) a (e) se han graficado los valores de concentración (mg/kg) obtenidos en cada método de extracción para cada elemento (Tabla 6 y 7). En todos los gráficos se muestran las desviaciones estándar como barras de error. Se han graficado por separado las muestras de SLP debido a que las concentraciones de esta zona son bastante mayores a las de Taxco, para poder apreciar bien los datos de Taxco.

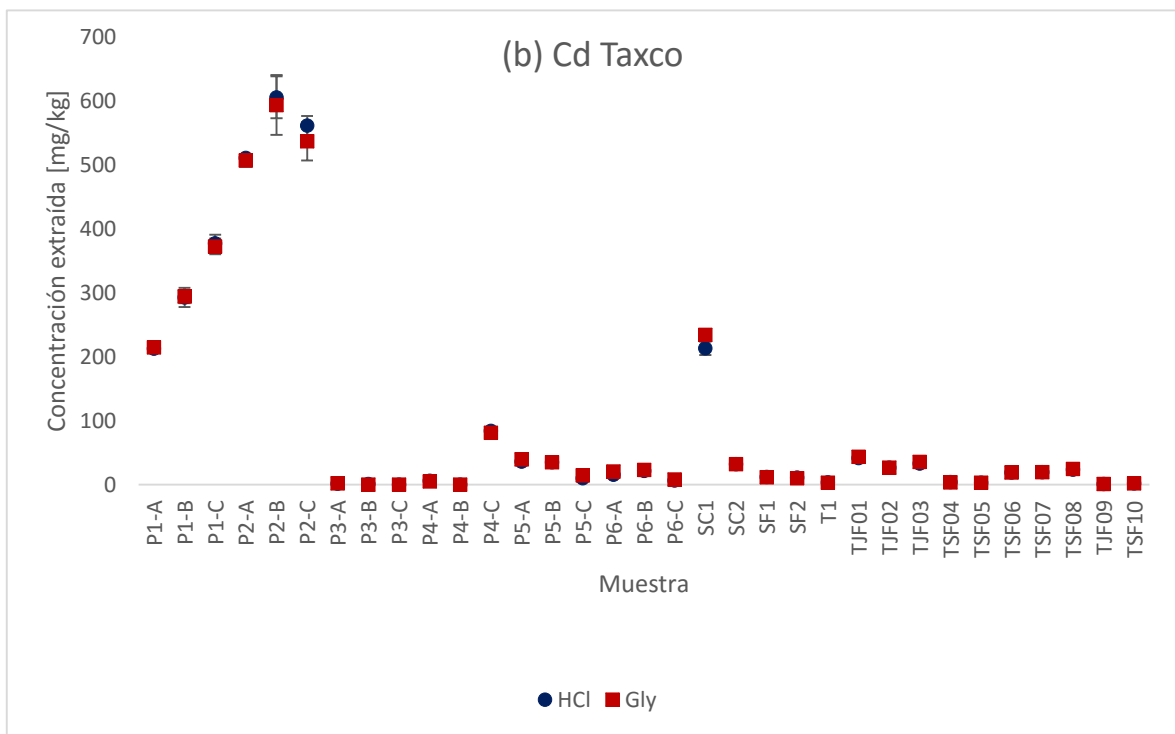
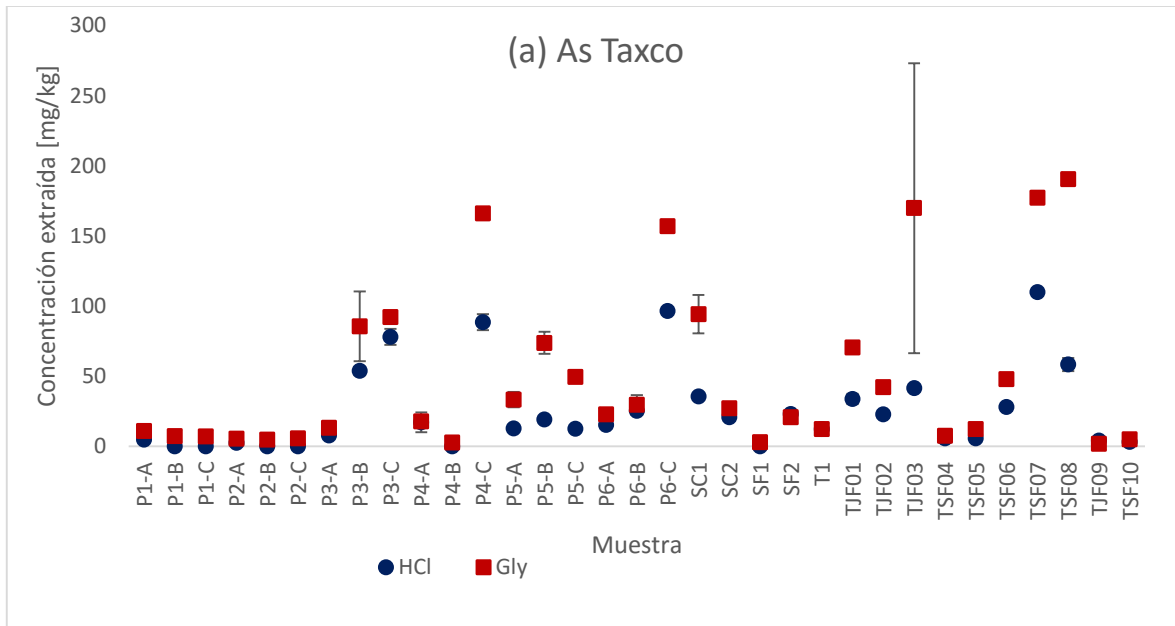


Figura 13. Comparación de las concentraciones obtenidas usando el método que simula la fase gástrica, extracción con glicina (SBRC) y las extracciones únicamente con HCl. Ambas extracciones se realizaron con estricto control de  $\text{pH} = 1.5 \pm 0.1$ . En todos los gráficos se muestran las desviaciones estándar como barras de error; (a) para As en Taxco, (b) para Cd en Taxco (continúa)

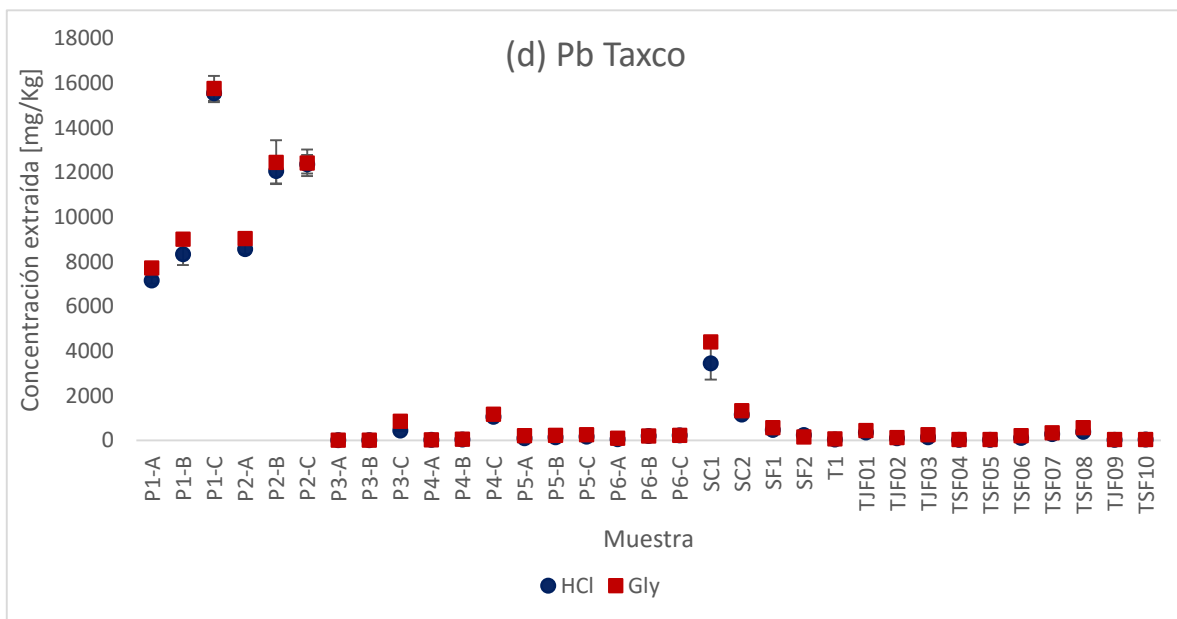
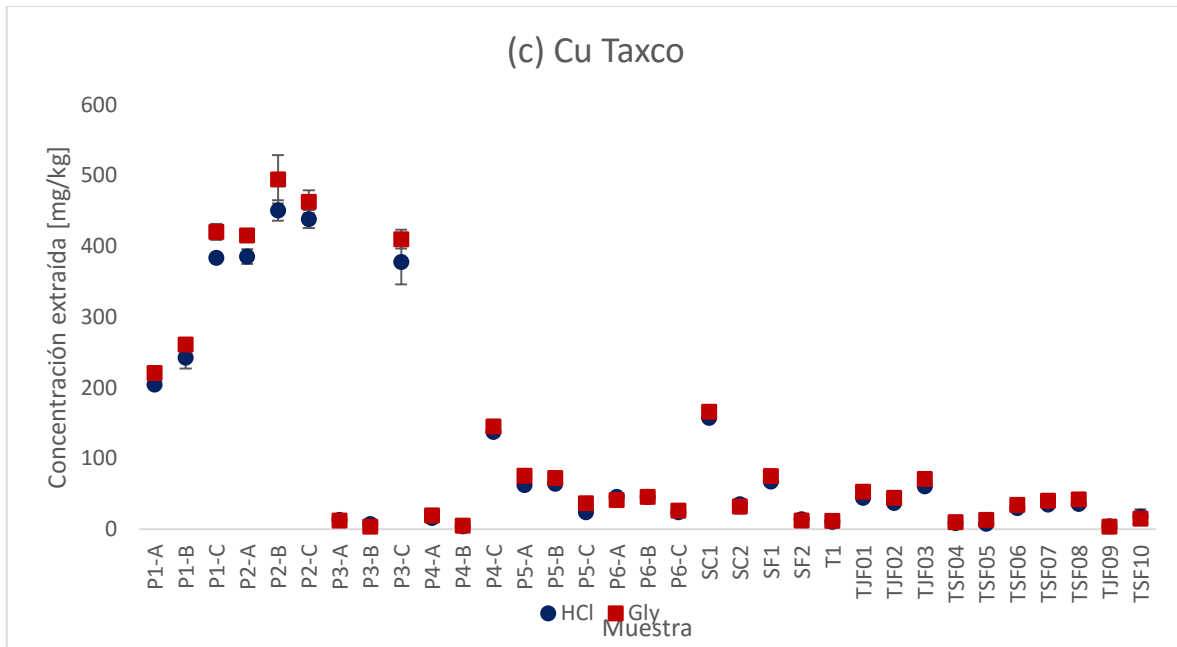


Figura 13. Comparación de las concentraciones obtenidas usando el método que simula la fase gástrica, extracción con glicina (SBRC) y las extracciones únicamente con HCl. Ambas extracciones se realizaron con estricto control de  $\text{pH} = 1.5 \pm 0.1$ . En todos los gráficos se muestran las desviaciones estándar como barras de error; (c) para Cu en Taxco, (d) para Pb en Taxco (continuación)

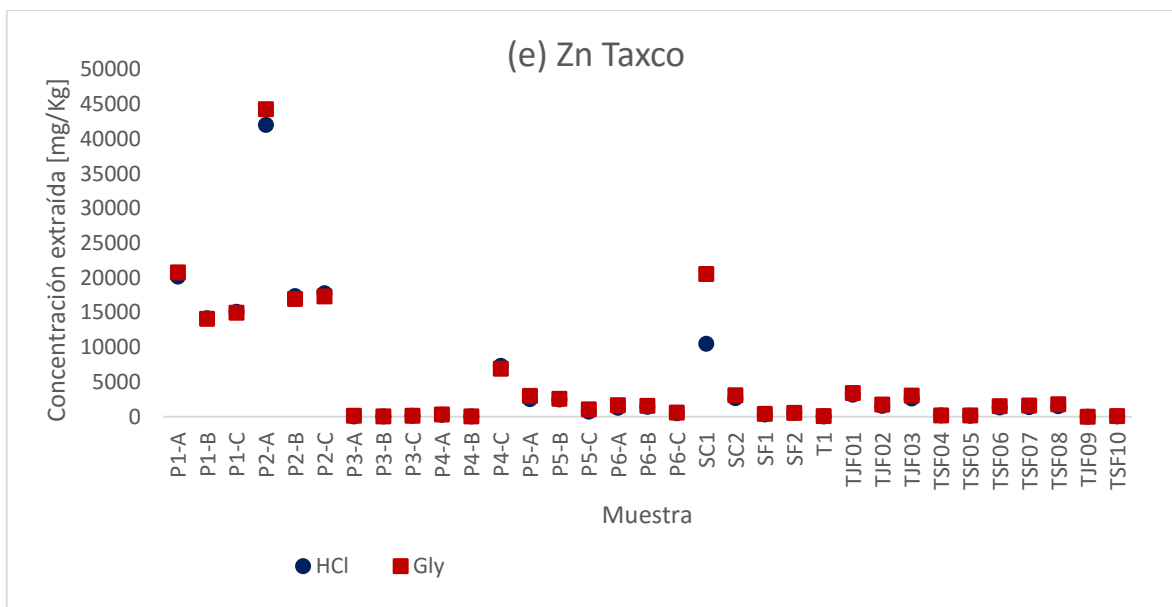


Figura 13. Comparación de las concentraciones obtenidas usando el método que simula la fase gástrica, extracción con glicina (SBRC) y las extracciones únicamente con HCl. Ambas extracciones se realizaron con estricto control de  $\text{pH} = 1.5 \pm 0.1$ . En todos los gráficos se muestran las desviaciones estándar como barras de error; (e) para Zn en Taxco (continuación)

Los valores de concentración extraídos con HCl son muy semejantes a los del método de la SBRC en la zona de Taxco. El arsénico fue el único metaloide que presentó mayor diferencia de concentración entre los dos métodos, siendo más alta la concentración con el método de la glicina.

Este comportamiento sólo se observó en las muestras de Taxco, las concentraciones de As en las muestras de SLP son muy cercanas entre cada método (Figura 14). De nuevo esto es manifestación de la diferente mineralogía del As que se espera en jales y suelos contaminados.

Un comportamiento similar reportan Cui *et al.* (2008) cuando comparan las concentraciones de As entre los métodos de BA, el PBET y IVG. Mingot *et al.* (2011) reportan un porcentaje de BA entre el método de la glicina y el de HCl de 63.1 y 51.8%, respectivamente; las muestras que analizaron fueron suelo de patio.



Los valores variables de concentración BA de As en jales puede ser el resultado de la formación de complejos de glicinia de diferente afinidad con las especies presentes en la muestra, como la arsenopirita, favoreciendo la disolución/disponibilidad del arsénico.

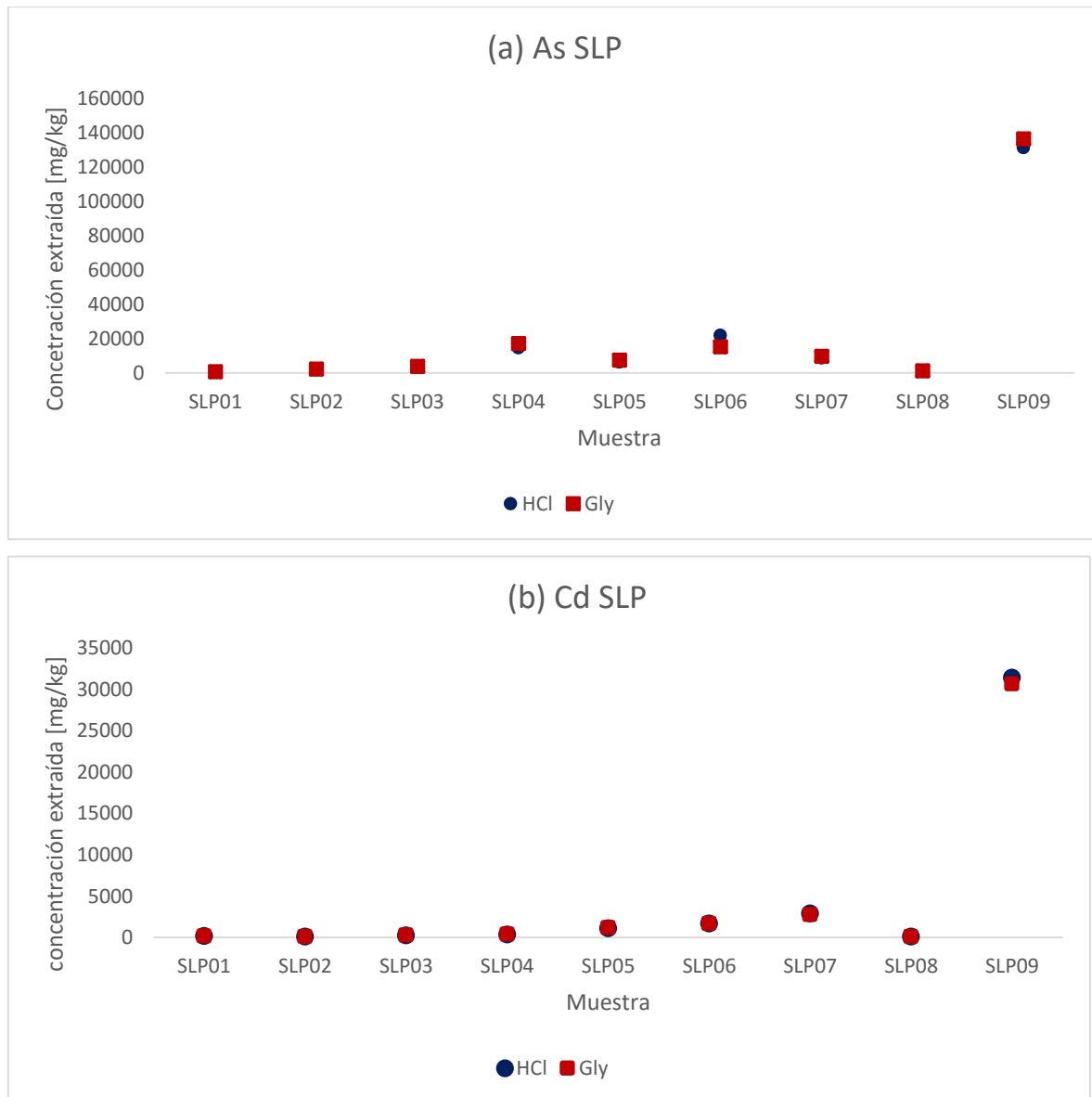


Figura 14. Comparación de las concentraciones obtenidas usando el método que simula la fase gástrica, en su extracción con glicina (SBRC) y en su extracción únicamente con HCl. Ambas extracciones se realizaron con estricto control de pH=1.5. En todos los gráficos se muestran las desviaciones estándar como barras de error; (a) para As en SLP (b) para Cd en SLP (continúa)

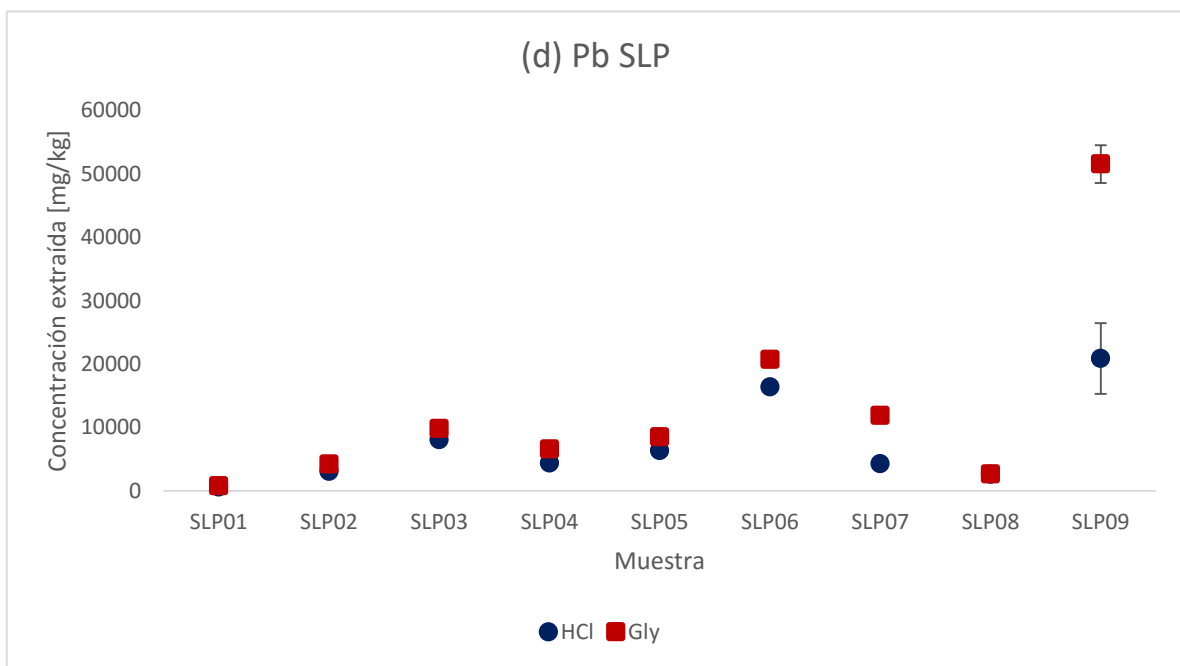
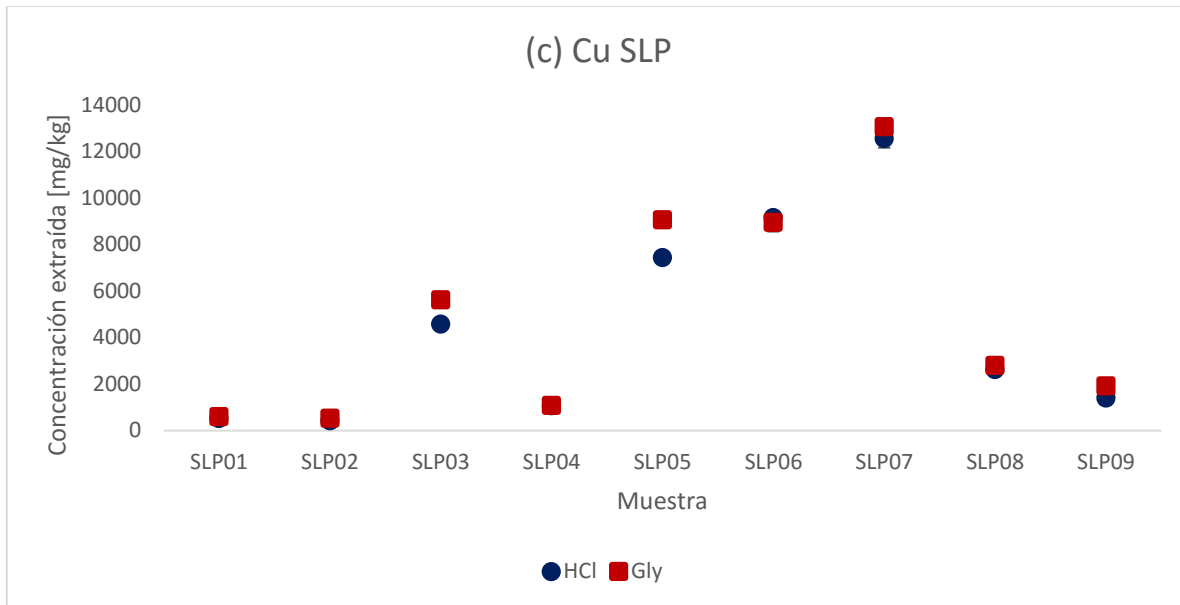


Figura 14. Comparación de las concentraciones obtenidas usando el método que simula la fase gástrica, en su extracción con glicina (SBRC) y en su extracción únicamente con HCl. Ambas extracciones se realizaron con estricto control de pH=1.5. En todos los gráficos se muestran las desviaciones estándar como barras de error; (c) para Cu en SLP (d) para Pb en SLP (continuación)

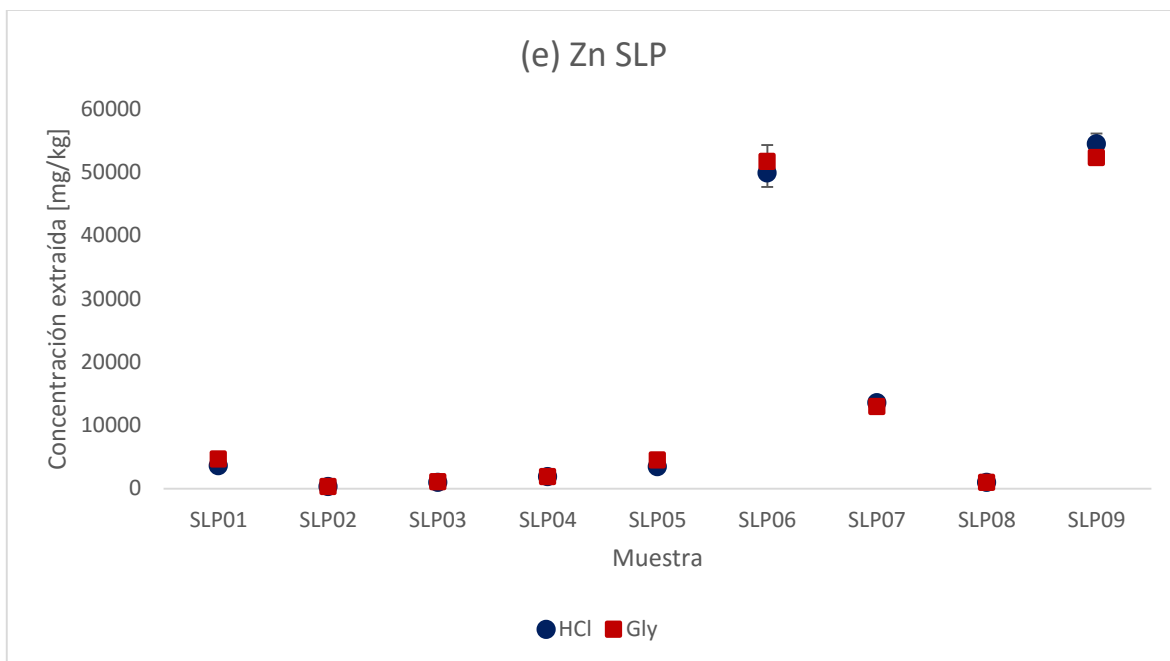


Figura 14. Comparación de las concentraciones obtenidas usando el método que simula la fase gástrica, en su extracción con glicina (SBRC) y en su extracción únicamente con HCl. Ambas extracciones se realizaron con estricto control de pH=1.5. En todos los gráficos se muestran las desviaciones estándar como barras de error; (e) para Zn en SLP (continuación)

En suelos de SLP las concentraciones de todos los elementos en todas las zonas son muy coincidentes entre ambos métodos de extracción (Figura 14). Solamente el Pb muestra discrepancias reproducibles principalmente en tres de las muestras: SLP06, SLP07 y SLP09.

La muestra SLP06 es la única que presentó un pH básico. La muestra SLP09 es escoria vítrea; aparentemente, la concentración de Pb es alta, sin embargo, al sacar el porcentaje BA (con glicina) éste corresponde a un 25% (51 527 mg/kg en Gly, vs. 204 211 mg/kg total). Este porcentaje es bajo si se compara con otras muestras que aparentemente presentan una concentración de Pb más baja, por ejemplo, al comparar la concentración extraída con la concentración total de la muestra de SLP01. Ésta representa un 78% (788 mg/kg en Gly vs. 1014 mg/kg total). En la preparación de las muestras, se observó que al adicionar las disoluciones extractantes, la muestra SLP07 se comporta como una muestra hidrofóbica, formando grumos. Esta característica de la muestra hace que

disminuya la superficie de contacto al llevar a cabo la extracción. Las especies de Pb contenidas en estas muestras deben tener mayor afinidad por la glicina que por el HCl, pero no se investigaron más detalles de especiación, por lo que será otra área de oportunidad en investigaciones futuras.

#### IV.5. Correlaciones entre los métodos de extracción

Para evaluar si el método de extracción simple con HCl es un método adecuado para predecir las posibles concentraciones BA en una muestra y sustituir el de la glicina (SBRC), se determinó el grado de correlación lineal entre los resultados obtenidos con los dos métodos de extracción.

Los resultados se presentan en las Figuras 15 y 16. Se han graficado por separado los resultados de las muestras de SLP y las de Taxco, debido a que las concentraciones de EPT de las muestras de la zona metalúrgica (SLP) son muy altas y no se aprecian los resultados de las muestras de Taxco al graficar conjuntamente.

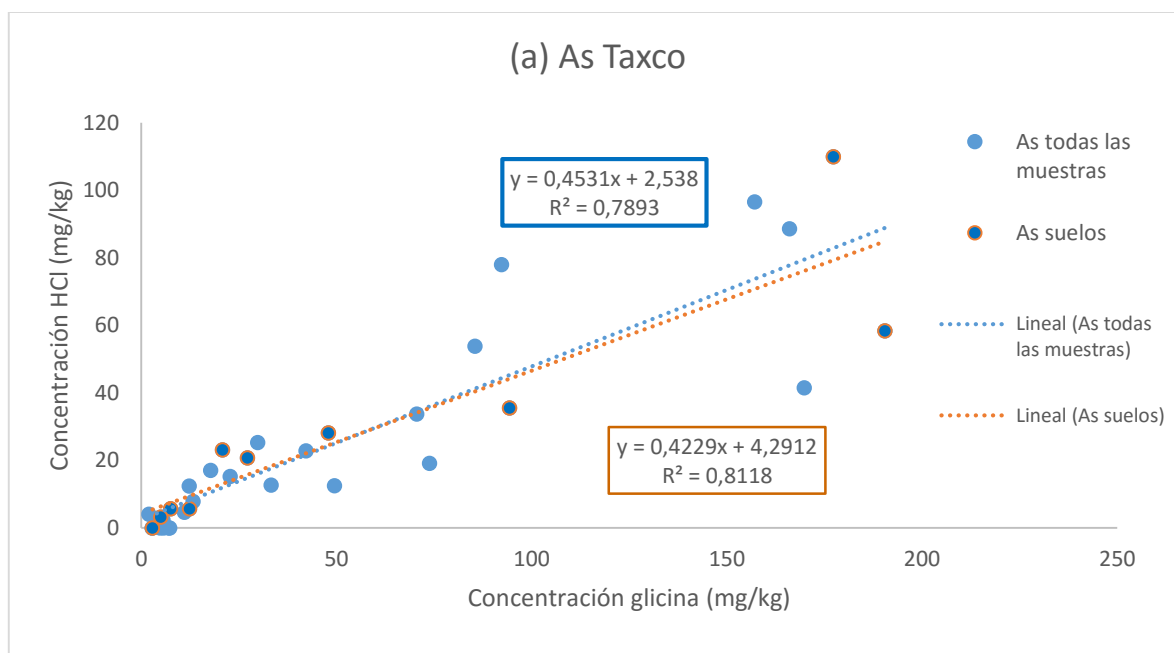


Figura 15. Rectas de regresión lineal entre las extracciones con HCl y las extracciones con glicina con estricto control de pH=1.5; (a) para As en Taxco (*continúa*)

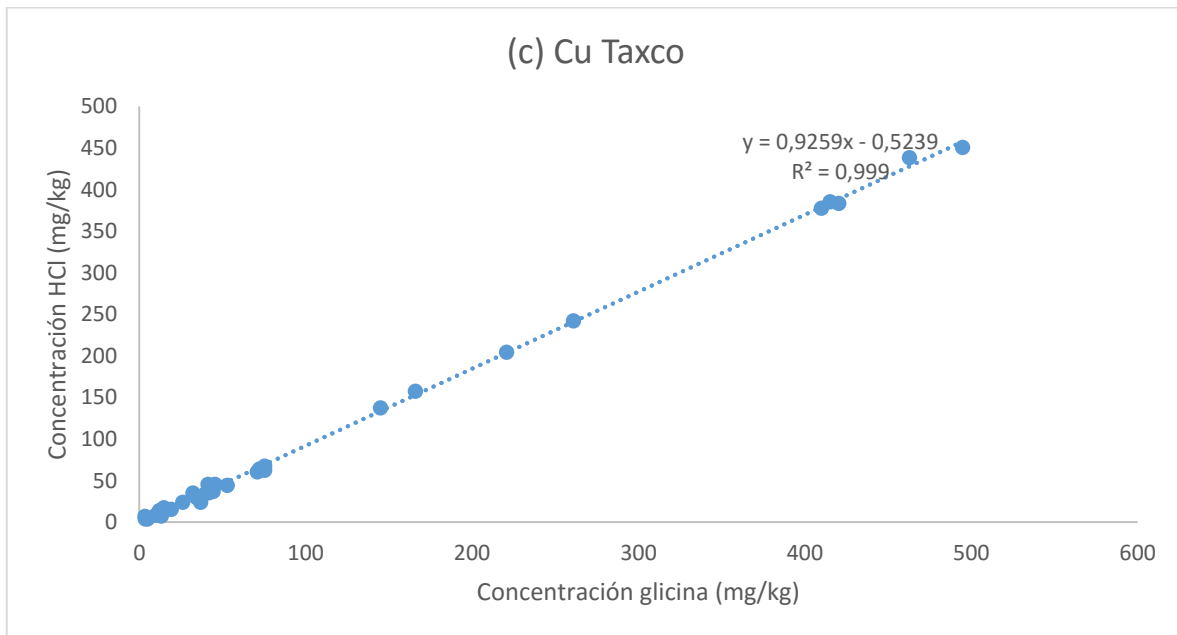
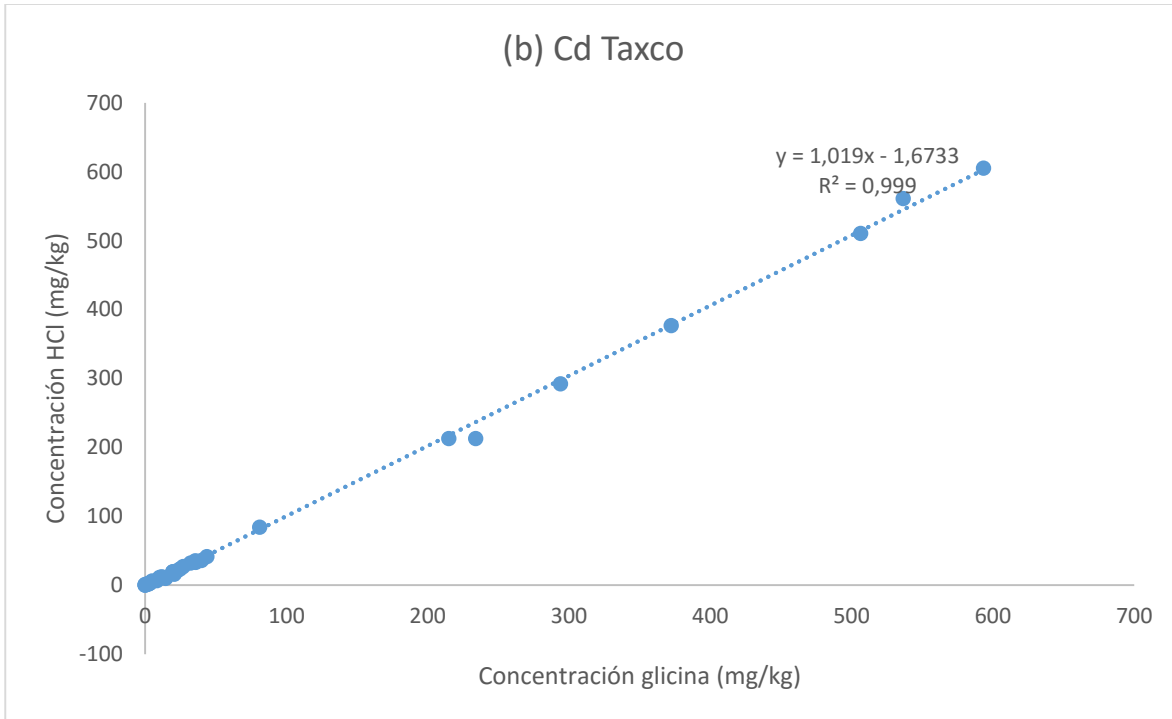


Figura 15. Rectas de regresión lineal entre las extracciones con HCl y las extracciones con glicina con estricto control de pH=1.5; (b) para Cd en Taxco, (c) para Cu en Taxco (*continuación*)

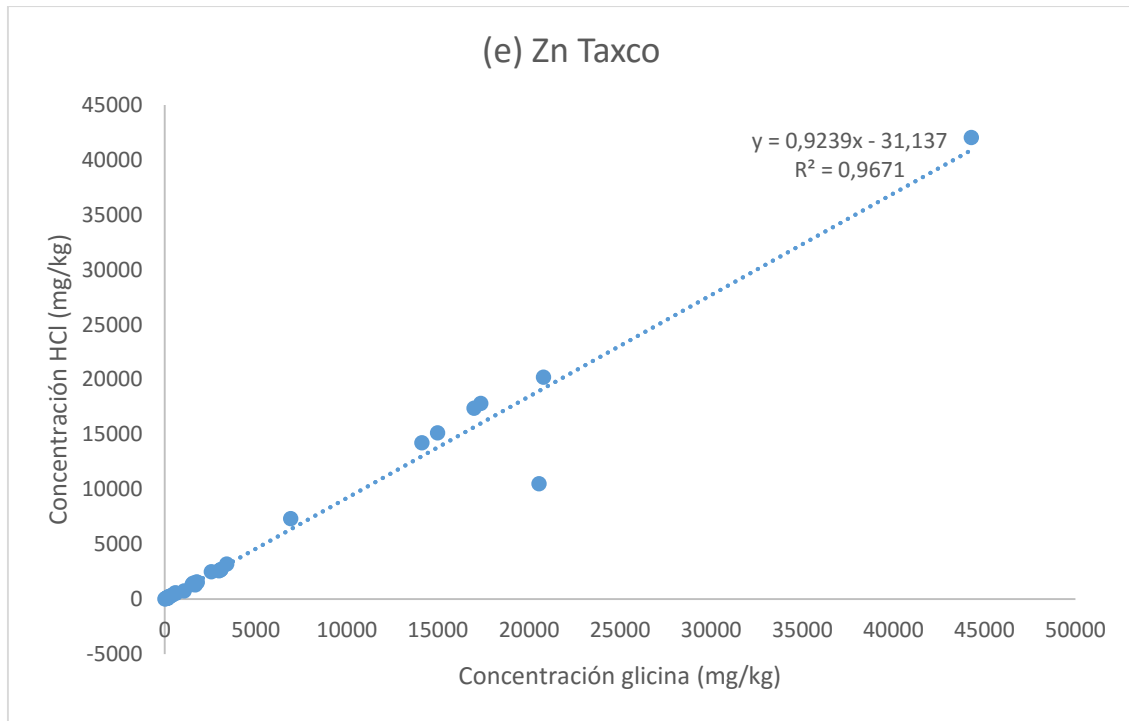
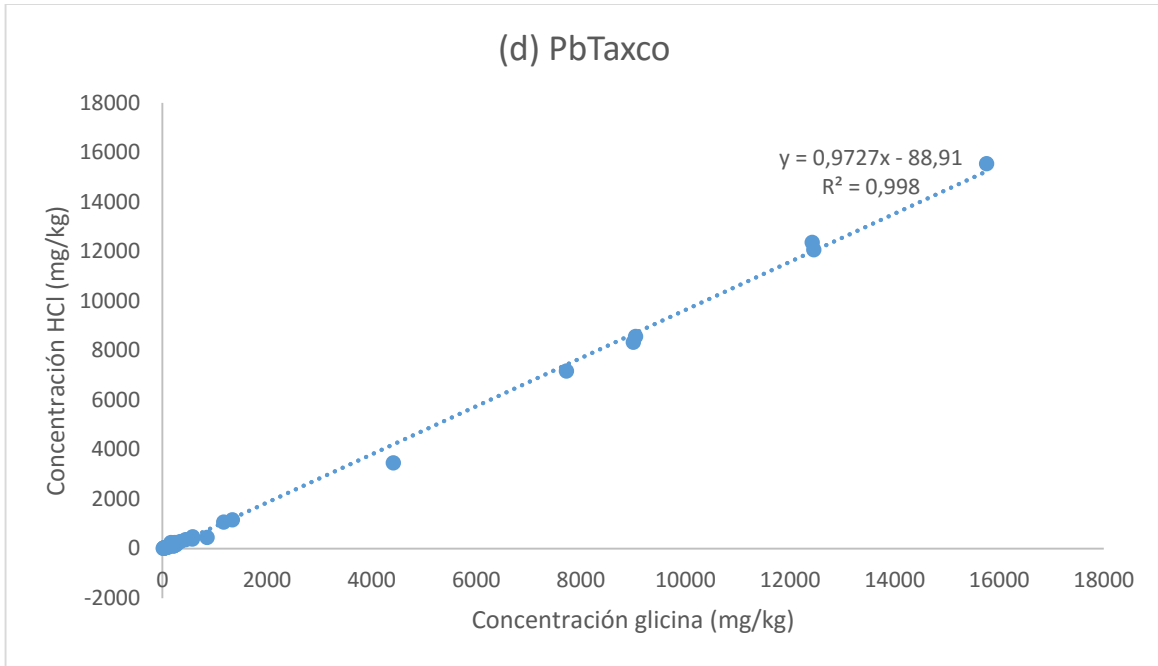


Figura 15. Rectas de regresión lineal entre las extracciones con HCl y las extracciones con glicina con estricto control de pH=1.5; (d) para Pb en Taxco (e) para Zn en Taxco (continuación)

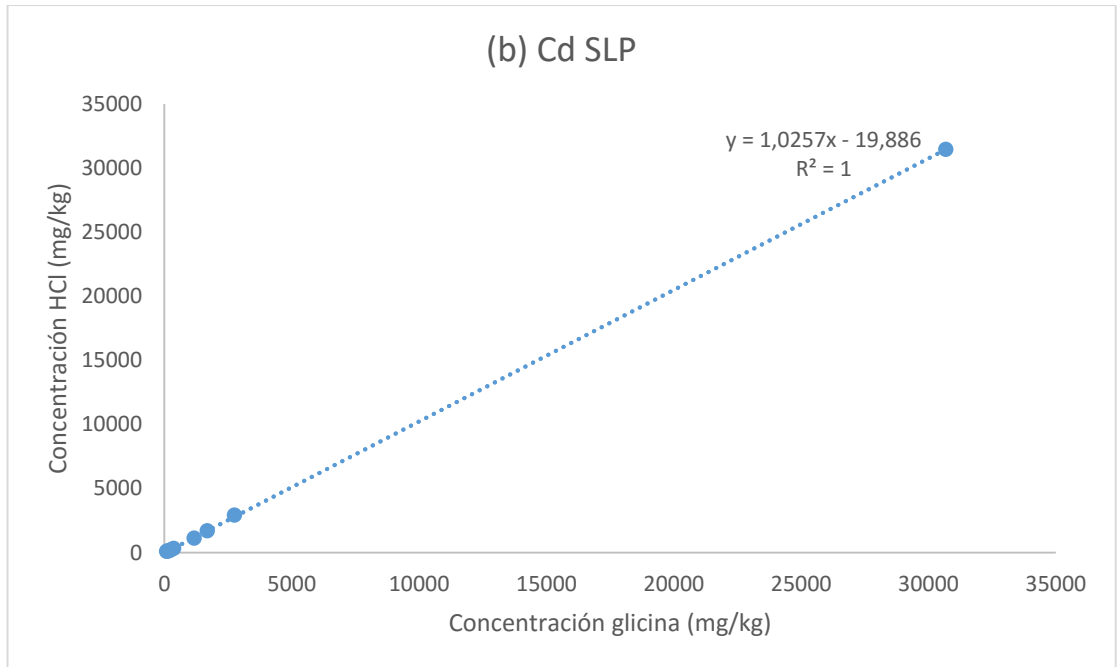
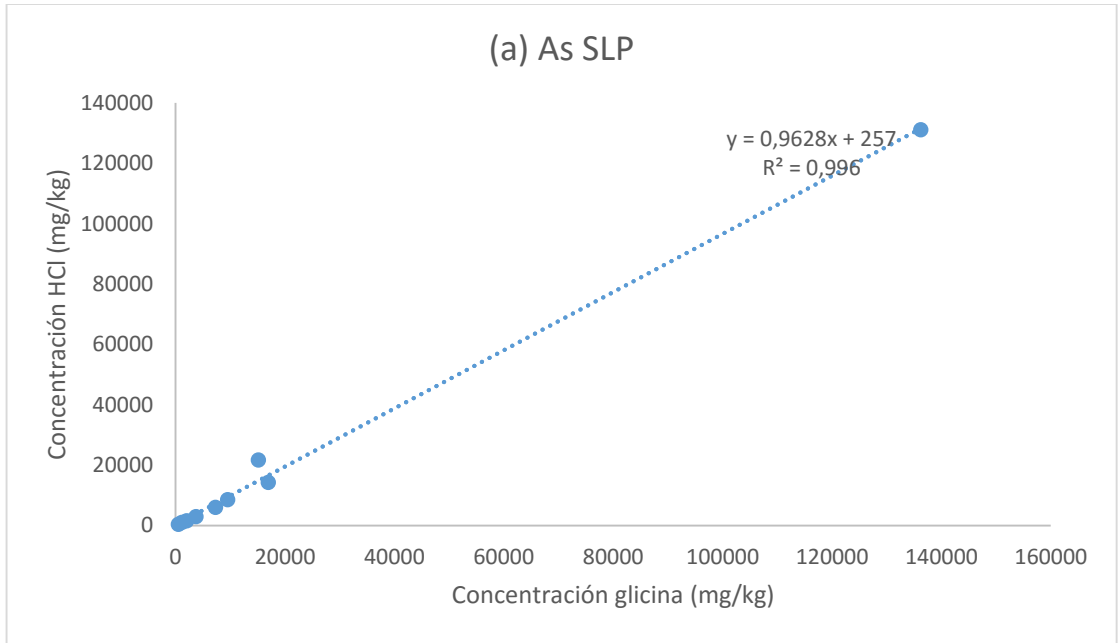


Figura 16. Rectas de regresión lineal entre las extracciones con HCl y las extracciones con glicina con estricto control de pH=1.5 en la zona de SLP; (a) para As (b) para Cd (continúa)

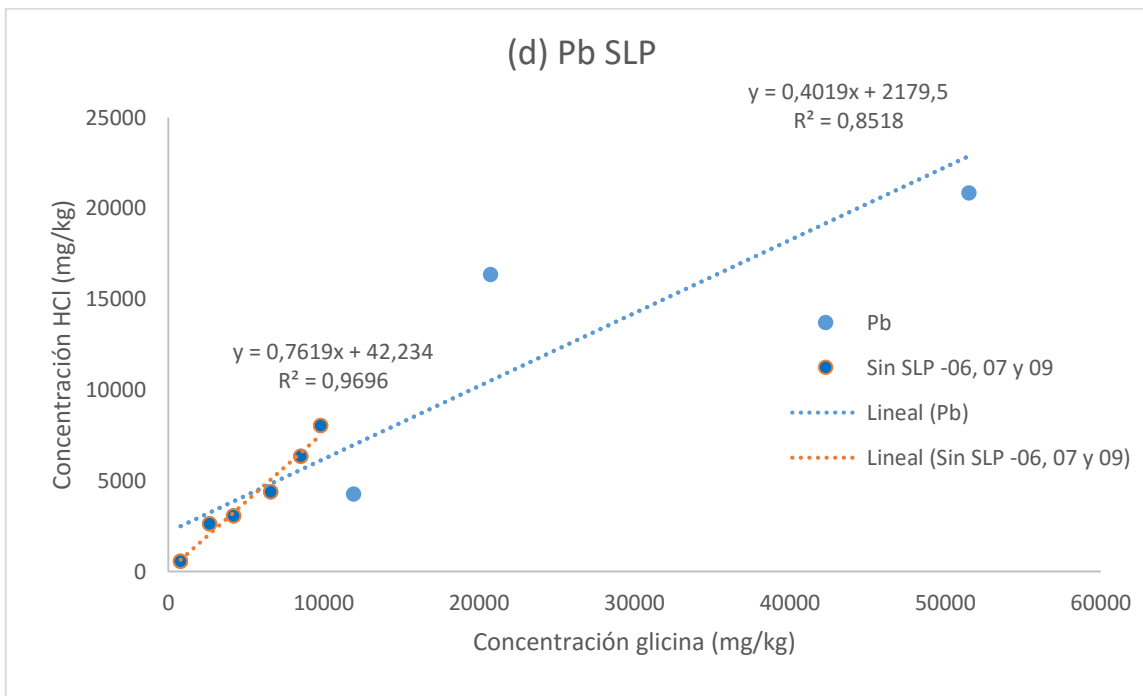
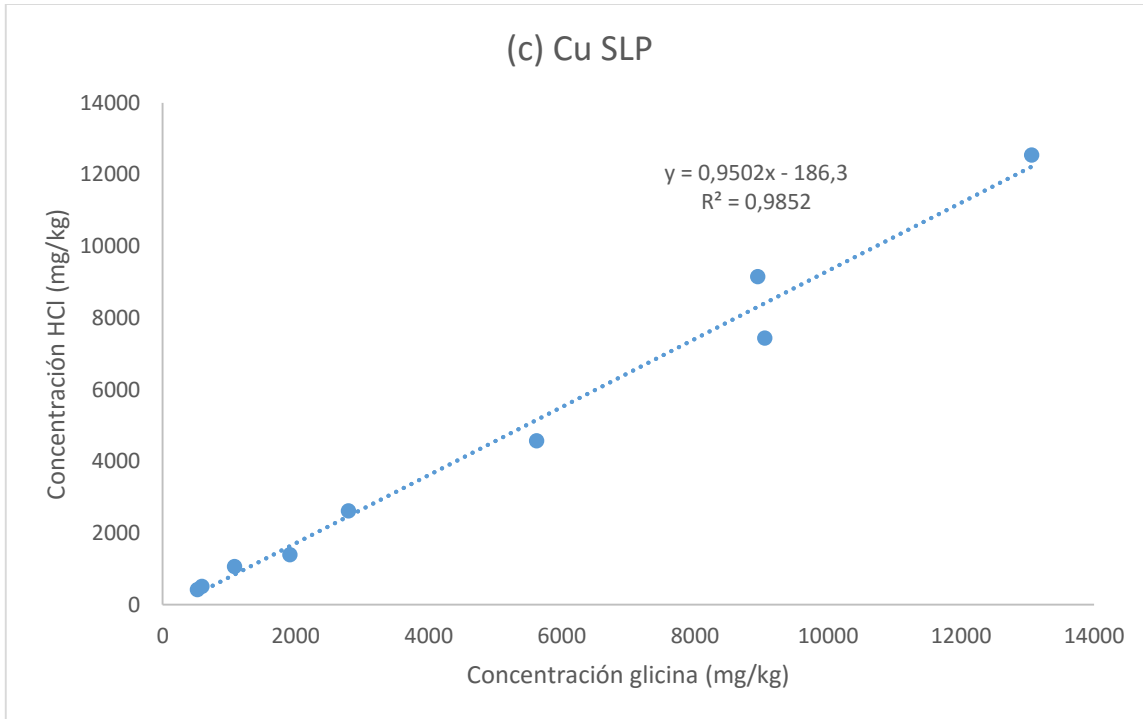


Figura 16. Rectas de regresión lineal entre las extracciones con HCl y las extracciones con glicina con estricto control de pH=1.5 en la zona de SLP; (c) para Cu, (d) para Pb (*continuación*)



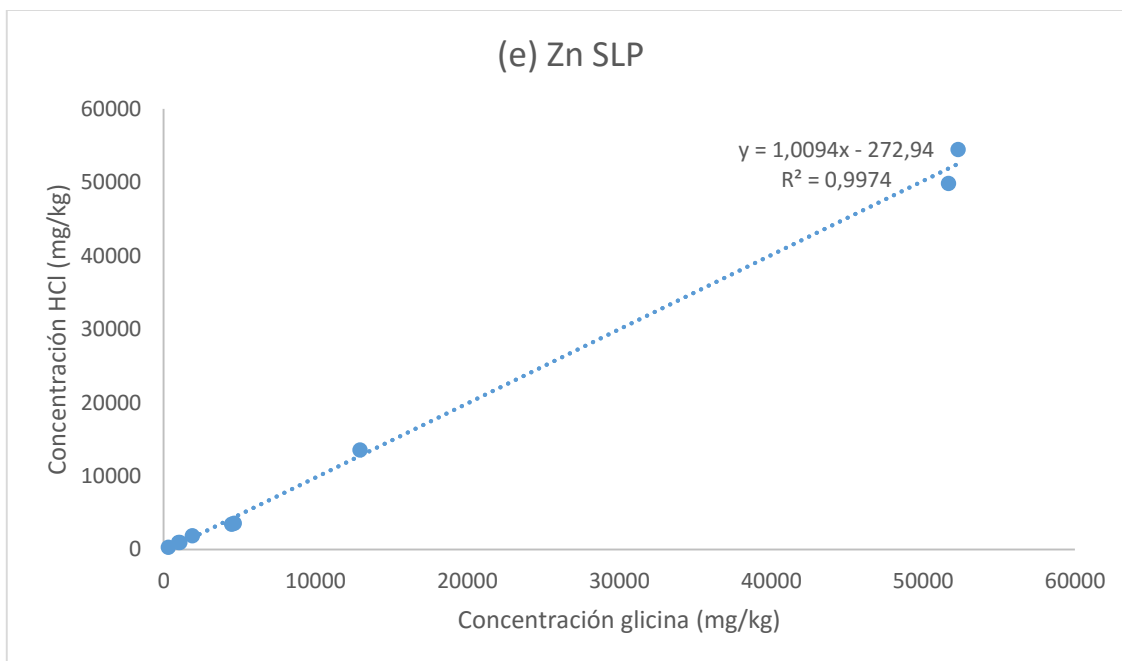


Figura 16. Rectas de regresión lineal entre las extracciones con HCl y las extracciones con glicina con estricto control de pH=1.5 en la zona de SLP; (e) para Zn (*continuación*)

Las muestras de Taxco presentaron buenas correlaciones entre los dos métodos de extracción, los coeficientes de correlación obtenidos para cada uno de los elementos de interés son muy cercanos a uno ( $r^2 > 0.97$ ), a excepción del arsénico ( $r^2 = 0.79$ ), para el que se muestra una alta dispersión. Las pendientes obtenidas de las rectas de regresión, excepto para el As, fueron de 0.92, excepto para el Cd, de 1.0 (Figura 16). Esto significa que el HCl extrae concentraciones ligeramente menores que su mezcla con glicina, pero con una muy alta correlación entre ambos métodos, de tal manera que se puede usar el HCl sólo para predecir la extracción con ambos reactivos y sugiere que el pH es el parámetro fundamental en la extracción. En el caso de As, más adelante se hará el análisis separado por tipo de muestra.

Las muestras de San Luis Potosí, presentaron aún mayor correlación lineal ( $r^2 > 0.98$ ), incluyendo al As, esta vez, excepto el plomo con una correlación,  $r^2 = 0.85$ , debido esencialmente a las 3 muestras con discrepancias (SLP 06, 07 y 09).

En la literatura se encuentran reportados varios trabajos donde llevan a cabo extracciones simples usando ácido clorhídrico (Dodd *et al.*, 2013; European Committee for Standardization, 1994; Mingot *et al.*, 2011; Rasmussen *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2009). Sin embargo, las condiciones experimentales son distintas a las que se evaluaron en este proyecto. Difieren en la temperatura de extracción, en la relación masa: volumen y en la concentración de HCl empleada.

Las correlaciones obtenidas en esta investigación son comparables o considerablemente mejor a las reportadas en la literatura, a excepción de los resultados obtenidos para el Pb en la zona de SLP y As en la zona de Taxco.

Para el arsénico en las muestras de Taxco se han separado los resultados de acuerdo con las características de las muestras: en jales, jales oxidados, jales grises y suelos, con objeto de evaluar si mejoran las correlaciones (Figura 17).

La correlación mejora ligeramente sólo para las muestras de suelos ( $r^2=0.811$ ), mientras que los jales siguen presentando altas dispersiones. Esto sugiere que el As podría encontrarse en jales y suelos contaminados por éstos con contenidos variables de la fuente original de arsenopirita, a la cual se puede deber una menor extractabilidad, que a las especies más oxidadas de As; pero a su vez, la extractabilidad de estas últimas [As (III) y As(V)] también podría ser muy variable, como lo demuestran los jales oxidados; además de los minerales de hierro presentes en las muestras.

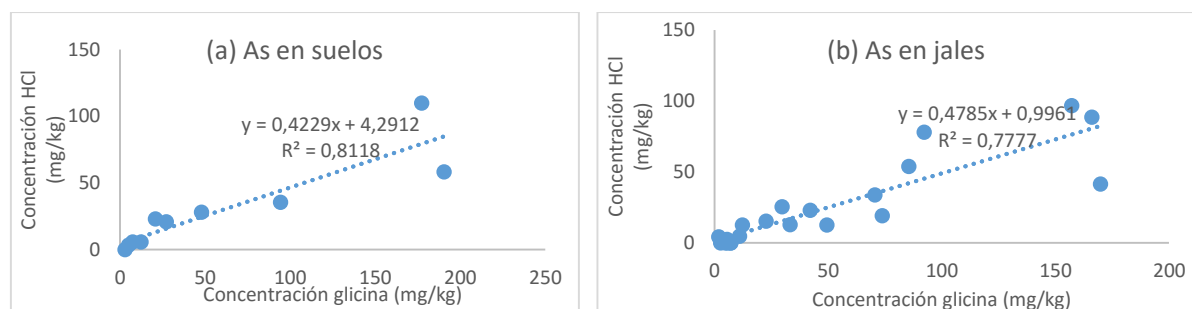


Figura 17. Rectas de regresión lineal entre las extracciones de HCl y glicina únicamente para el arsénico. Se han separado las gráficas de acuerdo con las características de las muestras: (a) en suelos, (b) en jales, (c) en jales oxidados, (c') en jales oxidados omitiendo el valor más alto de concentración y (d) en jales reducidos (*continúa*)

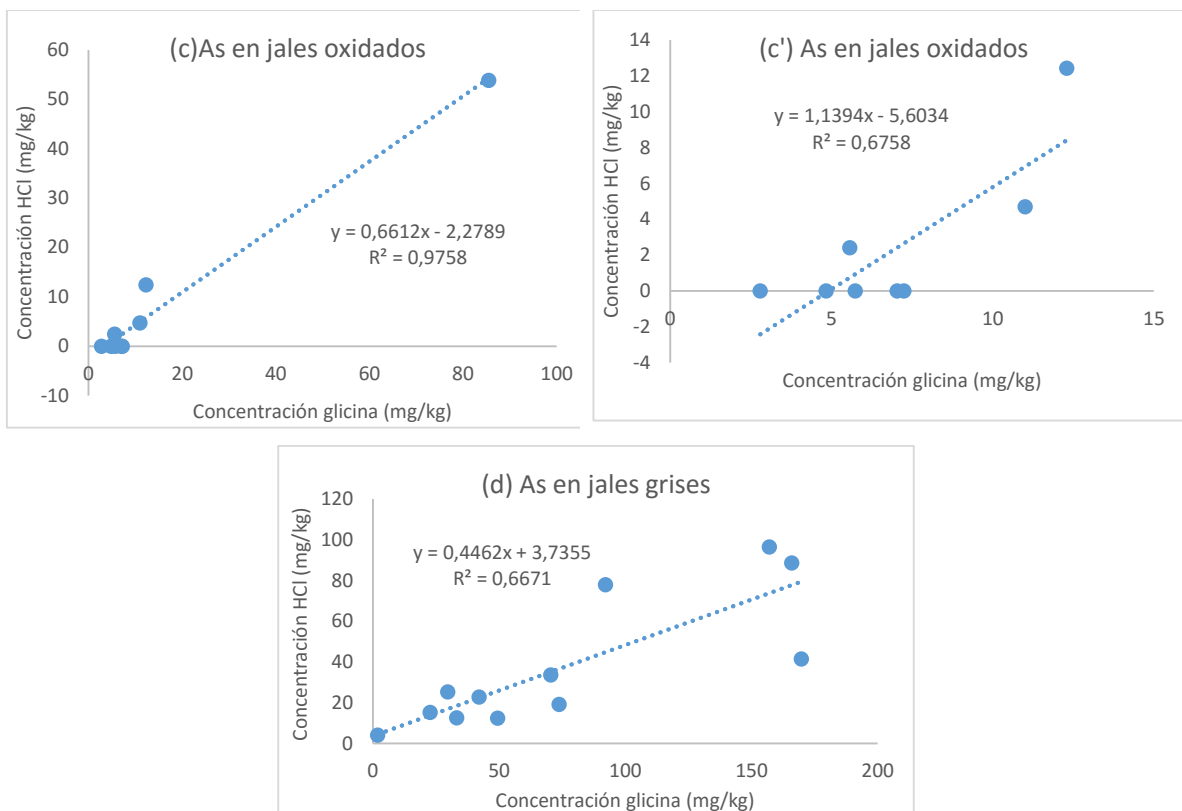


Figura 17. Rectas de regresión lineal entre las extracciones de HCl y glicina únicamente para el arsénico. Se han separado las gráficas de acuerdo con las características de las muestras: (a) en suelos, (b) en jales, (c) en jales oxidados, (c') en jales oxidados omitiendo el valor más alto de concentración y (d) en jales reducidos (*continuación*)

Se han separado las muestras en jales oxidados y jales grises (reducidos) y, en ambos casos, no se observa una buena correlación, probablemente por los minerales que están presentes en los dos tipos de jales, así como la especiación del As. Esta es otra área de oportunidad para investigaciones futuras.

En SLP, la correlación entre los dos métodos es cercana a uno, debido muy probablemente a que los procesos metalúrgicos convierten a todo el As a su forma pentavalente y de una especiación menos variable y permanecen así en las condiciones oxidantes en las que se encuentra el suelo.

Otro factor importante, son los minerales presentes en los jales y suelos, y su estabilidad en el medio ácido en el que se lleva a cabo la extracción. La solubilidad de los minerales a los que se encuentra enlazado el As puede estar influenciada

por un recubrimiento o encapsulación afectando la bioaccesibilidad. Por ejemplo, un mineral importante en la retención de EPT en suelos es la goetita que, en condiciones ácidas, se disuelve y por lo tanto libera al arsénico. Aunque en el tiempo de 1 hora de la extracción esta disolución será parcial y, además, en suelos la presencia de carbono orgánico disuelto promueve la solubilidad de As (Dobran y Zagury *et al.*, 2006).

En este trabajo no se realizó el análisis de la composición mineralógica de las muestras; sin embargo, existen estudios previos en donde señalan las especies que pueden encontrarse en suelos y residuos de la minería y la industria metalúrgica. Los sulfuros de arsénico (arsenopirita, FeAsS) son las especies menos bioaccesibles (<1%) (Ruby *et al.*, 1999). El As asociado a los óxidos de hierro como las formas “amorfas” de óxidos e hidróxidos de hierro, tiende a presentar valores intermedios de bioaccesibilidad (< 5%) (Beak *et al.*, 2006) y el trióxido de arsénico se considera comparativamente más bioaccesible (Ruby *et al.*, 1999). Por tanto, una muestra con mayor contenido de óxidos de Fe poco cristalinos proveerá mayor liberación de As(V) sorbido, que aquellas de óxidos de Fe más cristalinos, dado que la limitación de 1 hora de extracción permite especular que ocurrirá mayor disolución de los poco cristalinos (*e.g.*, ferrihidrita, schwertmannita) en comparación con los más cristalinos (*e.g.*, goetita, hematita) (Drahota *et al.*, 2009; Dobran y Zagury *et al.*, 2006).

En el estudio que realizaron Meunier *et al.* (2010a) reportan que las muestras que presentan minerales como la escorodita, arsenopirita, presentan un valor de bioaccesibilidad bajo (< 0.6%) y las muestras en donde predominan arcillas y arsenatos de calcio-hierro, el valor de BA encontrado fue alto (29 y 49%).

Por lo antes descrito, la presencia de varias fases minerales, unas más estables que otras a pH ácidos, el arsénico en sus diferentes estados de oxidación y la heterogeneidad de las muestras de jales hacen que la concentración de arsénico extraída sea distinta en cada método evaluado y dependa considerablemente de la muestra.

En la Figura 16 (d), la gráfica de Pb que corresponde a la zona metalúrgica presenta un valor de  $r^2= 0.85$ , es una correlación relativamente fuerte, pero si se compara con los demás EPT analizados, este valor es bajo.

Se han graficado las comparaciones eliminando los resultados de las muestras que presentaron un comportamiento discrepante (Figura 18). El gráfico (d) Pb, que presenta mejor correlación tiene eliminadas las 3 muestras (SLP 06, 07, y 09), después le sigue la que elimina únicamente SLP06, la cual presenta un valor de pH alcalino. Sin embargo, aún la de mejor correlación ( $r^2=0.97$ ), tiene una pendiente considerablemente menor a 1 (0.76), lo cual indica que la extracción con glicina es muy superior a la que hace el HCl solo y, en este caso, la especiación de Pb muy probablemente tiene una afinidad adicional para complejarse con glicina. No ocurre así en el caso de los jales y suelos de Taxco.

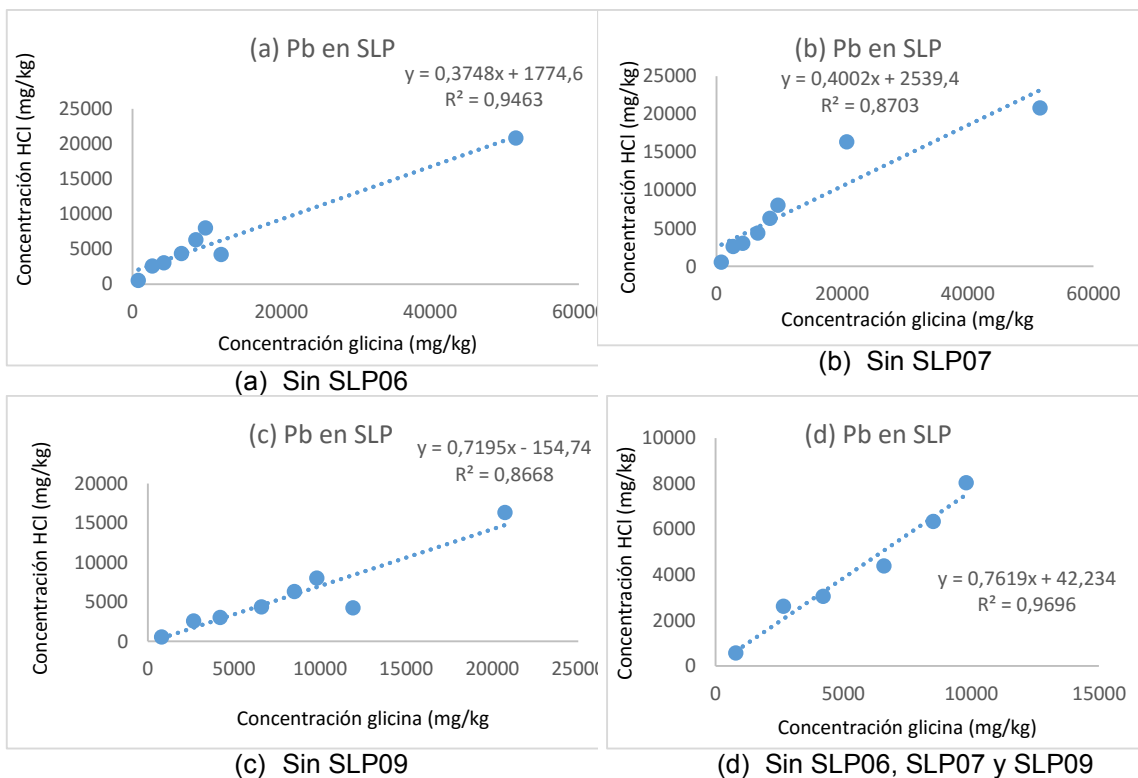
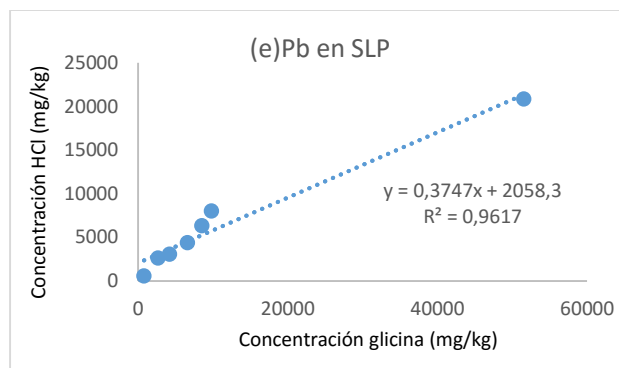


Figura 18. Rectas de regresión lineal entre las extracciones de HCl y glicina únicamente del plomo en SLP. En cada gráfica se ha omitido el valor de las muestras SLP06, SLP07 y/o SLP09. (a) sin SLP06, (b) sin SLP07, (c) sin SLP09, (d) sin SLP06, SLP07 y SLP09, y (e) sin SLP06 y SLP07 (continúa)



Sin SLP06 y SLP07

Figura 18. Rectas de regresión lineal entre las extracciones de HCl y glicina únicamente del plomo en SLP. En cada gráfica se ha omitido el valor de las muestras SLP06, SLP07 y/o SLP09: (a) sin SLP06, (b) sin SLP07, (c) sin SLP09, (d) sin SLP06, SLP07 y SLP09, y (e) sin SLP06 y SLP07 (*continuación*)

López-Velecela (2012) realizó un análisis de DRX de dos muestras que pertenecen a esta zona. La elección para realizar este análisis se basó en las diferencias de BA encontradas. La muestra que presentó un mayor porcentaje de BA reportó los siguientes minerales: la carminita  $[PbFe_2(AsO_4)_2(OH)]$ , la kintoreita  $[PbFe_3(PO_4)_2(OH, H_2O)_6]$  y beudantita  $[PbFe_3(AsO_4)(SO_4)(OH)_6]$ . arsendescloizita  $[PbZn(AsO_4)(OH)]$ , tsumcorita  $[Pb(Zn, Fe)_2(AsO_4)_2(OH, H_2O)_2]$ , arsenbrackebuschita  $[Pb(Zn, Fe)(AsO_4)_2(OH, H_2O)]$ , thometzekita  $[Pb(Cu, Zn)_2(AsO_4)_2(OH, H_2O)_2]$ , y duftita  $[PbCu(AsO_4)(OH)]$ . Estos resultados son sorprendentes pues se esperaría que los arseniatos insolubles de Pb no estarían tan biodisponibles y, sin embargo, demuestra que la acidificación debe disolverlos fácilmente, además de que la glicina también favorece aún más su disolución.

La muestra SLP07 presenta un %BA similar al de la muestra SLP06, sin embargo, su pH es neutro, los posibles minerales a los que se encuentra asociado el Pb podrían ser óxidos de plomo, fosfatos de plomo o Pb-Fe-Ox, inclusive (López-Velecela, 2012; Rasmussen *et al.*, 2011; US EPA, 2003).

Cabe mencionar que estas tres muestras se realizaron por cuadruplicado con un CV menor al 20%.

## CAPITULO V Conclusiones y recomendaciones

### V. 1. Conclusiones

Para lograr el objetivo planteado en esta investigación que era evaluar un método de extracción sencillo mediante la utilización de HCl que se correlacionara altamente con el método de bioaccesibilidad de *SBRC* para As, Pb, Zn, Cu y Cd en varios lotes de residuos mineros, de suelos contaminado por residuos mineros y de suelos contaminados por residuos metalúrgicos, de dos zonas seleccionadas de México, se analizaron un total de 42 muestras de Taxco, Guerrero (zona minera) y San Luis Potosí, San Luis Potosí (zona metalúrgica), México. Terminada la investigación se pudo concluir lo siguiente:

- Los resultados obtenidos en ambos métodos fueron comparables. Casi todos los elementos mostraron muy altas correlaciones lineales entre los dos procedimientos evaluados; Cd:  $[(r^2=0.999)_{\text{Taxco}} (r^2=1)_{\text{SLP}}]$ , Cu:  $[(r^2=0.999)_{\text{Taxco}} (r^2=0.985)_{\text{SLP}}]$  y Zn:  $[(r^2=0.967)_{\text{Taxco}} (r^2=0.997)_{\text{SLP}}]$ .
- Los dos elementos con correlaciones variables fueron As y Pb. El As presentó una fuerte correlación en la zona metalúrgica (SLP),  $(r^2=0.996)_{\text{SLP}}$ , pero en la zona minera (Taxco) la correlación lineal no fue buena  $(r^2=0.789)_{\text{Taxco}}$ . En contraste, el plomo presentó buena correlación en la zona de Taxco  $(r^2=0.998)$ , pero en SLP la correlación fue menor  $(r^2=0.851)$ .
- En ambos casos de baja correlación entre los dos métodos, la extracción con el método *SBRC* (glicina/HCl) fue considerablemente superior a la extracción simple, HCl.
- Las altas correlaciones lineales obtenidas en este trabajo se debieron al estricto control del pH al que se llevó a cabo la extracción de los EPT  $(\text{pH}=1.5\pm 0.1)$ , al método de filtración usado (tamaño de poro de  $0.05 \mu\text{m}$ ) y al tiempo de extracción  $(t= 60\pm 5 \text{ minutos})$ , principalmente.
- De acuerdo con las altas correlaciones obtenidas, cercanas a uno, entre los dos métodos evaluados, *SBRC* y HCl, con  $\text{pH}=1.5\pm 0.1$  para determinar la

bioaccesibilidad de EPT en la fase gástrica, el uso del HCl resulta ser un método sencillo, de fácil adquisición, que puede ser usado para evaluar una situación de riesgo en zonas contaminadas por metales pesados y metaloides, como lo son la minería y la industria metalúrgica.

## VI. 2. Recomendaciones

A la luz de los resultados obtenidos, las bajas correlaciones para los elementos As y Pb entre los dos métodos evaluados, se recomienda investigar la especiación de estos elementos, como reiterativamente se mencionó en el capítulo de resultados y discusión.



## Disposición controlada de los residuos producidos en esta investigación

Los residuos generados en esta investigación fueron disoluciones ácidas, producto de las extracciones realizadas y residuos sólidos; suelos y jales. A continuación, se presenta el diagrama del tratamiento que se le dio a los residuos producidos.

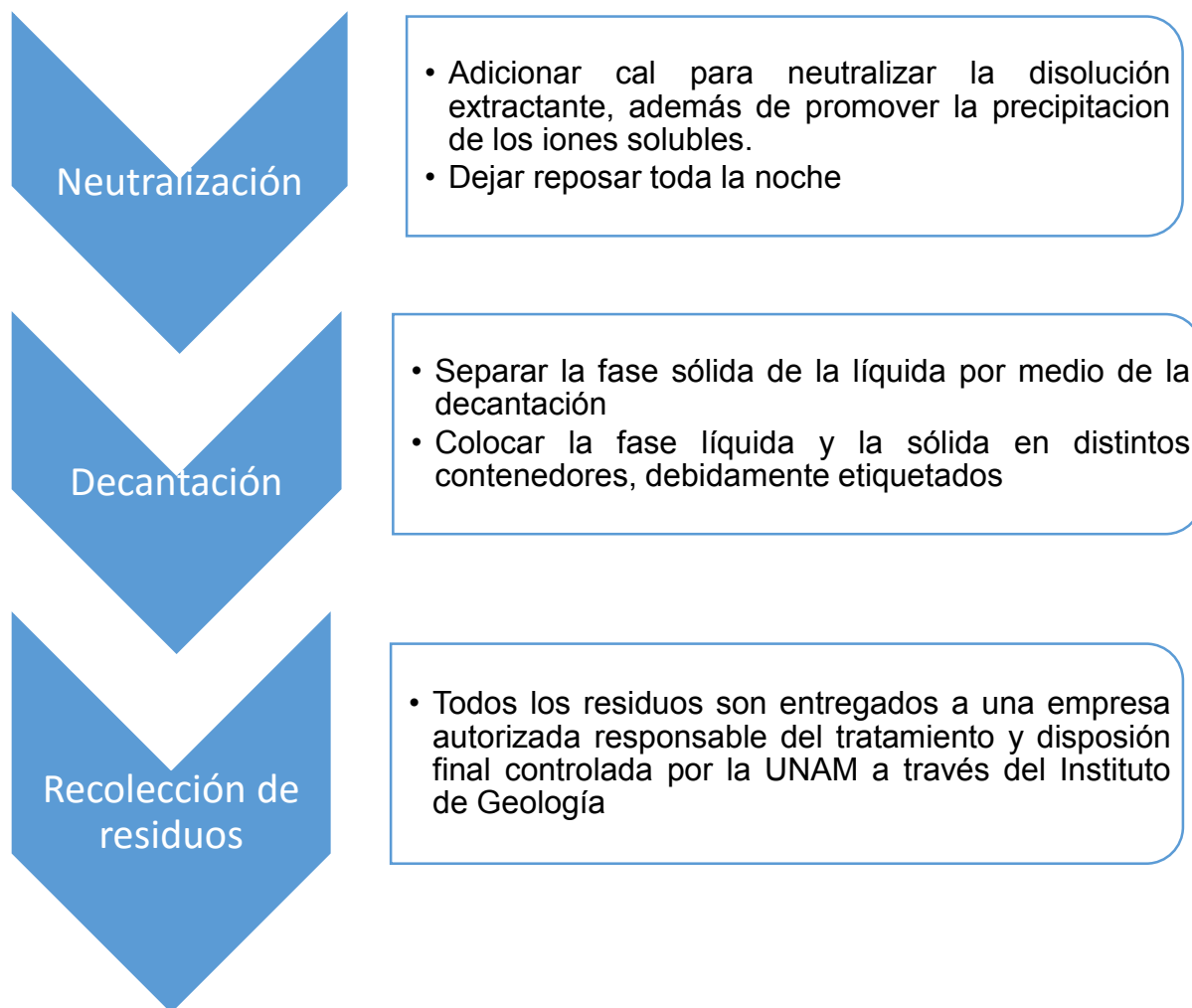


Figura 19. Diagrama del tratamiento de los residuos generados

## Referencias bibliográficas

Alloway, B.J. Soil processes and the behaviour of metals. In heavy metals in soils. Segunda edición London, Blackie Academic and Professional, 1995

Aragón-Piña, A.; Torres-Villaseñor, G.; Monroy-Fernandez, M.; Luszczewski-Kundra A.; Leyva-Ramos, R. Scanning electron microscope and statistical analysis of suspended heavy metal particles in San Luis Potosi, Mexico. *Atmos. Environ.* 2000, 34, 4103-4112

Armienta, M.A.; Talavera, O.; Morton, O.; Barrera, M. Geochemistry of metals from mine tailings in Taxco, Mexico. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 2003, 71, 387-393

Barrett, K.E.; Barman, S.M.; Boitano, S.; Brooks, H.L. *Ganon, Fisiología Médica.* McGraw Hill 2010, pp. 422-442

Basta, N.; Foster, J.N.; Dayton, E.A.; Rodriguez, R.R.; Casteel, S.W. The effect of dosing vehicle on arsenic bioaccessibility in smelter-contaminated soils. *J. Environ. Sci. Health Part A* 2007, 42, 1275-1281

Beak, D.G.; Basta, N.T.; Shecke, I K.G.; Traina, S.J. Bioaccessibility of arsenic (V) bound to ferrihydrite using a simulated gastrointestinal system. *Environ. Sci. Technol.* 2006, 40, 1364-1370

Bradham, K.D.; Scheckel, K.G.; Nelson, C.M.; Seales, P.E.; Lee, G.E.; Hughes, M.F.; Miller, B.W.; Yeow, A.; Gilmore, T.; Serda, S.M.; Harper, S.; Thomas, D.J. Relative bioavailability and bioaccessibility and speciation of arsenic in contaminated soils. *Environ. Health Perspect.* 2011, 119, 1629-1634

Brown, T.; LeMay, E.; Bursten, B.; Burdge, J. *Química. La ciencia central.* Novena edición Pearson Educacion, México 2004, pp. 921-923

Buckley, B.T. Estimates of bioavailability of metals in soil with synthetic biofluids: Is this a replacement for animals studies? In: IBC Conference on Bioavailability 1998, Scottsdale, AZ, US

Cao, X.; Ma, L.; Li, B.; Yang, Y. Immobilization of Zn, Cu, and Pb in contaminated soils using phosphate rock and phosphoric acid. *J. Hazard. Mater.* 2009, 164, 555-564

Carrizales, L.; Razo, I.; Téllez-Hernández, J.I.; Torres-Nerio, R.; Torres, A.; Batres, L.E.; Cubillas, A-C.; Díaz-Barriga, F. Exposure to arsenic and lead of children living near a copper-smelter in San Luis Potosi, Mexico: Importance of soil contamination for exposure of children. *Environ. Res.* 2006, 101, 1-10

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. *Fund. Appl. Toxicol.* 1997, 36, 177-187

Cave, M.R.; Wragg, J.; Palumbo, B.; Klinck, B.A. Measurement of the bioaccessibility of arsenic in UK soils. Environment Agency, Almondsbury, Bristol, 2003

Cienfuegos, A. Secreción gástrica e inhibidores de bomba de protones. Rev. Col. Gastroenterol. 2010, 25, 94- 98

Cortinas de Nava, C. Instituto Nacional de Ecología. Manejo ambiental de los relaves o jales mineros. Consultando 9 de diciembre de 2014. <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/gacetas/155/cortinas.html>

Cui, X-Y.; Li, S-W.; Zhang, S-J.; Fan, Y-Y.; Ma, L.Q. Toxic metals in children's toys and jewelry: Coupling bioaccessibility with risk assessment. Environ. Pollut. 2015, 200, 77-84

Cui, Y.; Chen, X.; Zhu, Y. Comparison of three *in vitro* methods to study the bioaccessibility of soil lead and arsenic. J. Agro-Environ. Sci. 2008, 27, 414– 419

Davis, A.; Drexler, J.W.; Ruby, M.V.; Nicholson, A. Micromineralogy of mine wastes in relation to lead bioavailability, butte, montana. Environ. Sci. Technol. 1993, 27, 1415-1425

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. Environ. Sci. Technol. 2012, 46, 6252–6260

Dobran, S.; Zagury, G.J. Arsenic speciation and mobilization in CCA-contaminated soils: Influence of organic matter content. Sci. Total. Environ. 2006, 364, 239–250

Dodd, M.; Rasmussen, P.E.; Chénier, M. Comparison of two *in vitro* extraction protocols for assessing metals bioaccessibility using dust and soil reference materials. Human Ecol. Risk Assess. 2013, 19, 1014–1027

DOF, 2015. Proyectos de normas mexicanas PROY-NMX-AA-132-SCFI-2015. Muestreo de suelos para la identificación y la cuantificación de metales y metaloides, y manejo de la muestra. Diario Oficial de la Federación, México, Distrito Federal, México

DOF, 2007. 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. Diario Oficial de la Federación. Poder Ejecutivo Federal. Estados Unidos Mexicanos. Diario Oficial de la Federación, México, Distrito Federal, México

Drahota, P.; Rohovec, J.; Filippi, M.; Mihaljevič M.; Rychlovský P.; Červený V.; Pertold Z. Mineralogical and geochemical controls of arsenic speciation and mobility under different redox conditions in soil, sediment and water at the Mokrsko-West gold deposit, Czech Republic. Sci. Total Environ. 2009, 407, 3372–3384

Drexler J.W.; Brattin W.J. An *in vitro* procedure for estimation of lead relative bioavailability: With validation. Human Ecol. Risk Assess. 2007, 13, 383-401

Environmental Agency. Soil guideline values for cadmium in soil. Science Report SC050021/Cadmium SGV. Bristol: Environment Agency. Consultado el 6 de enero de 2014

[https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment\\_data/file/313899/SC\\_HO0709BQRO-e-e.pdf](https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/313899/SC_HO0709BQRO-e-e.pdf).

European Committee for Standardization. Safety of toys-part 3: Migration of certain elements. European Standard EN 71-3, Brussels, Belgium, 1994

Freeman, G.B.; Johnson, J.D.; Killinger, J.M.; Liao, S.C.; Feder, P.I.; 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. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1993, 21, 83-88

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. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1995, 28, 215-222

Gasser, U.G.; Walker, W.J.; Borch, R.S.; Burau, R.G. Lead release from smelter and mine waste impacted materials under simulated gastric conditions and relation to speciation. *Environ. Sci. Tech.* 1996, 30, 761-769

González-Sandoval, M.R.; Sánchez-Tovar, S.A.; Márquez-Herrera, C.; Lizárraga-Mendiola, L.G.; Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.C. Oxidación de jales ricos en pirita en un reactor a escala de banco. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales* 2008, 4, 130-138

Google Earth 2015. Taxco, Guerrero, México. Image © 2015, DigitalGlobe

Grohnert, O.; Durán, C.C.; Arredondo, O.A.; Uauy, D-I. R. Cobre y zinc en nutrición humana. Capítulo 1.29. Consultado el 7 de agosto de 2015. [http://www.uco.es/master\\_nutricion/nb/Gil%20Hernandez/Cu%20Zn.pdf](http://www.uco.es/master_nutricion/nb/Gil%20Hernandez/Cu%20Zn.pdf)

Groen, K.; Vaessen, H.; Kliest, J.J.G.; De Boer, J.L. M.; Ooik, T.V.; Timmerman, A.; Vlug, F.F. Bioavailability of inorganic arsenic from bog ore-containing soil in the dog. *Environ. Health Persp.* 1994, 102, 182-184

Gutiérrez-Ruiz, M.E.; Moreno-Turrent, M. Los residuos en la minería mexicana. Instituto Nacional de Ecología, México, Distrito Federal, México, 1995, pp 37

Gutiérrez, R.M.; Romero, F.M.; González, H.G. Suelos y sedimentos afectados por la dispersión de jales inactivos de sulfuros metálicos en la zona minera de Santa Bárbara, Chihuahua. *México Revista Mexicana de Ciencias Geológicas* 2007, 24, 170-184

Hack, A.; Selenka, F. Mobilization of PAH and PCB from contaminated soil using a digestive tract model. *Toxicol. Lett.* 1996, 88, 199-210

Harmsen, J. Measuring bioavailability: From a scientific approach to standard methods. J. Environ. Qual. 2007, 36, 1420–1428

Houba, V.J.G.; Novozamsky, I.; Huybregts, A.W.M.; Van der Lee, J.J. Comparison of soil extractions by 0.01 M CaCl<sub>2</sub>, by EUF and by some conventional extraction procedures. Plant Soil 1986, 96, 433-437

Houba, V.J.G.; Lexmond, T.M.; Novozamsky, I.; Van der Lee, J.J. State of the art and future developments in soil analysis for bioavailability assessment. Sci. Total Environ. 1996, 178, 21–28.

ISO 10390:2005. Soil quality – determination of pH

ISO 11074:2005. Soil quality – vocabulary

ISO/TS 17924:2007. Soil quality — Assessment of human exposure from ingestion of soil and soil material — Guidance on the application and selection of physiologically based extraction methods for the estimation of the human bioaccessibility/bioavailability of metals in soil

Juhasz, A.; Smith, E.; Weber, J. Impact of soil particle size and bioaccessibility on children and adult lead exposure in peri-urban contaminated soils. J. Hazard. Mater. 2011, 186, 1870–1879

Juhasz, A.; 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 2007, 69, 961–966

Juhasz, A.; 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. Environ. Sci. Technol. 2010, 44, 5240–5247

Juhasz, A.; 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. Environ. Sci. Technol. 2009a, 43, 4503–4509

Juhasz, A.; 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. Environ. Sci. Technol. 2009b, 43, 9487–9494

Kim, J.Y.; Kim, K.W.; Lee, J.U.; Lee, S.J.; Cook, J. Assessment of As and heavy metal contamination in the vicinity of Duckum Au-Ag Mine, Korea. Environ. Geochem. Health 2002, 24, 215-227

Koch, I.; Reimer, K.J.; Bakker, M.I.; Basta, N.T.; Cave, M.R.; Denys, S.; Dodd, M.; Hale, B.A.; Irwin, R.; Lowney, Y.W.; Moore, M.; Paquin, V.; Rasmussen, P.E.; Repaso-Subang, T.; Stephenson, G.L.; Siciliano, S.D.; Wragg, J.; Zagury, G.J. Variability of bioaccessibility

results using seventeen different methods on a standard reference material, NIST 2710. *J. Environ. Sci. Health Part A* 2013, 48, 641–655

Kramer, B.K.; Ryan, P.B. Soxhlet and microwave extraction in determining the bioaccessibility of pesticides from soil and model solids. *Proceedings of the 2000 conference on hazardous waste research 2000*, 196–210

Laird, B.D.; Weiseth, B.; Packull-McCormick, S.R.; Peak, D.; Dodd, M.; Siciliano, S.D. Solid–liquid separation method governs the *in vitro* bioaccessibility of metals in contaminated soil-like test materials. *Chemosphere* 2015, 134, 544–549

Le Bot, B.; Gilles, E.; Durand, S.; Glorennec, P. Bioaccessible and quasi-total metals in soil and indoor dust. *Eur. J. Mineral.* 2010, 22, 651–657

Li, J.; Li, K.; Cave, M.; Li, H.B.; Ma, L. Lead bioaccessibility in 12 contaminated soils from China: Correlation to lead relative bioavailability and lead in different fractions. *J. Hazard. Mater.* 2015, 295, 55–62

Li, Y.; Zhang, M. A comparison of physiologically based extraction test (PBET) and single-extraction methods for release of Cu, Zn, and Pb from mildly acidic and alkali soils. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2013, 20, 3140–3148

Lizárraga-Mendiola, L.; González-Sandoval, M.R.; Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.C.; Márquez-Herrera, C. Geochemical behavior of heavy metals in a Zn–Pb–Cu mining area in the State of Mexico (Central Mexico). *Environ. Monit. Assess.* 2009, 155, 355–372

López-Veleceta, F.N. Bioaccesibilidad del arsénico, cadmio, cobre y zinc en jales mineros y en suelos contaminados por residuos minero-metalúrgicos. Tesis de maestría, 2012. Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas, UNAM

MacLean, L.C.W.; Beauchemin, S.; Rasmussen, P.E. Chemical transformations of lead compounds under humid conditions: Implications for bioaccessibility. *Environ. Geochem. Health* 2013, 35, 153–159

Maddaloni, M.; Lolocono, N.; William, M.; Drexler, J.; Graziano, J. Bioavailability of soilborne lead in adults, by stable isotope dilution. *Environ. Health Persp.* 1998, 106, 1589–1594

Madrid, F.; Díaz-Barrientos, E.; Madrid, L. Availability and bioaccessibility of metals in the clay fraction of urban soils of Sevilla. *Environ. Pollution*, 2008, 156, 605–610

Madrid, F.; Reinoso, R.; Florido, M.C.; Díaz-Barrientos, E.; Ajmone-Marsan, F.; Davidson, C.M.; Madrid, L. Estimating the extractability of potentially toxic metals in urban soils: A comparison of several extracting solutions. *Environ. Pollut.* 2007, 147, 713–722

Manual de Laboratorio de Geoquímica Ambiental. Determinación de pH en matrices sólidas. Instituto de Geología, Departamento de Geoquímica, UNAM, 2010, México, Distrito Federal, México

Martínez-Sánchez, M.J.; Martínez-López, S.; Martínez-Martínez, L.B.; Pérez-Sirvent, C. Importance of the oral arsenic bioaccessibility factor for characterising the risk associated with soil ingestion in a mining-influenced zone. *J. Environ. Manag.* 2013, 116, 10-17

McGregor, R.G.; Blowes, D.W. The physical, chemical and mineralogical properties of three cemented layers within sulfide-bearing mine tailings. *J. Geochem. Explor.* 2002, 76, 195– 207

McLean, J.; Bledsoe, B. Behavior of metals in soils. Ground water issue. United States Environmental Protection Agency, EPA/540/S-92/018, 1992, Washington, DC, US

Mercier, G.; Duchesne, J.; Carles-Gibergues, A. A new *in vitro* test to simulate gastric absorption of copper, lead, tin, and zinc from polluted soils. *Environ. Tech.* 2002, 23, 121-133

Meunier, L.; Koch, I.; Reimer, J.K. Effects of organic matter and ageing on the bioaccessibility of arsenic. *Environ. Pollut.* 2011a, 159, 2530-2536

Meunier, L.; Koch, I.; Reimer, J.K. Effect of particle size on arsenic bioaccessibility in gold mine tailings of Nova Scotia. *Sci. Total Environ.* 2011b, 409, 2233–2243

Meunier, L.; Walker, S.; 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. *Environ. Sci. Technol.* 2010a, 44, 2667–2674

Meunier, L.; Wragg, J.; Koch, I.; Reimer, K.J. Method variables affecting the bioaccessibility of arsenic in soil. *J. Environ. Sci. Health Part A* 2010b, 45, 517–526

Mingot, J.; De Miguel, E.; Chacón, 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, 1386–1391

Molina, R.; Schaider, L.A.; Donaghey, T.C.; Shine, J. P.; Brain, J.D. Mineralogy affects geoavailability, bioaccessibility and bioavailability of zinc. *Environ. Pollut.* 2013, 182, 217-224

Moreno, T.R.; Téllez, H.J.; Monroy, F.M. Influencia de los minerales de los jales en la bioaccesibilidad de arsénico, plomo, zinc y cadmio en el distrito minero Zimapán, México. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 2012, 28, 203-218

Ng, J.C.; Kratzmann, S.M.; Qi, L.; Crawley, H.; Chiswell, B.; Moore, M.R. Speciation and absolute bioavailability: Risk assessment of arsenic-contaminated sites in a residential suburb in Canberra. *Analyst* 1998, 123, 889–892

Oomen, A.G.; Hack, A.; Minekus, M.; Zeijdner, E.; Cornelis, C.; Schoeters, G.; Verstraete, W.; Van de Wiele, T.; Wragg, J.; Rempelber, C.J.M.; Sips, S.J.; Van Wijnen J.H. Comparison of five *in vitro* digestion models to study the bioaccessibility of soil contaminants. *Environ. Sci. Technol.* 2002, 36, 3326–3334

Pérez, E.; Fernández, A.M. Centros de enseñanza online, ciclos formativos sanidad. Unidad 9, Aparato digestivo. Consultado 15 de junio de 2015. [https://www.mhe.es/ceo\\_tabla.php?tipo=1\\_03\\_TC&isbn=8448177851&sub\\_materia=34&ateria=14&nivel=C&comunidad=Castellano&ciclo=0&portal=&letrero=&cabecera](https://www.mhe.es/ceo_tabla.php?tipo=1_03_TC&isbn=8448177851&sub_materia=34&ateria=14&nivel=C&comunidad=Castellano&ciclo=0&portal=&letrero=&cabecera).  
<http://assets.mheducation.es/bcv/guide/capitulo/8448169158.pdf>

Pueyo, M.; Lopez-Sanchez, J.F.; Rauret, G. Assessment of  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{NaNO}_3$  and  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  extraction procedures for the study of Cd, Cu, Pb and Zn extractability in contaminated soils. *Anal. Chim. Acta.* 2004, 504, 217–226

Rasmussen, P.E.; Beauchemin, S.; Chenier, M.; Levesque, C.; MacLean, L.C.W.; Marro, L.; Jones-Otazo, H.; Petrovic, S.; McDonald, L.T.; Gardner, H.D. Canadian house dust study: Lead bioaccessibility and speciation. *Environ. Sci. Technol.* 2011, 45, 4959–4965

Rasmussen, P.E.; Beauchemin, S.; Nugent, M.; Dugandzic, R.; Lanouette, M.; Chénier, M. Influence of matrix composition on the bioaccessibility of copper, zinc, and nickel in urban residential dust and soil. *Human Ecol. Risk Assess.* 2008, 14, 351–371

Rayner-Canham, G.; Overton, T. Descriptive inorganic chemistry. Quinta edición, New York, US, W.H. Freeman and Company, 2010, pp. 571-572

Roberts, S.M.; Weimar, W.R.; Vinson, J.R.T.; Munson, J.W.; Bergeron, R. Measurement of arsenic bioavailability in soil using a primate model. *J. Toxicol. Sci.* 2002, 67, 303–310

Rodrigues, S.M.; Cruz, N.; Coelho, C.; Henriques, B.; Carvalho, L.; Duarte, A.C.; Pereira, E.; Römken, P. F.A. M. Risk assessment for Cd, Cu, Pb and Zn in urban soils: Chemical availability as the central concept. *Environ. Pollut.* 2013, 183, 234-242

Rodriguez, R.R.; Basta, N.T.; Casteel, S.W.; Pace, L.W. An *in vitro* gastrointestinal method to estimate bioavailable arsenic in contaminated soils and solid media. *Environ. Sci. Technol.* 1999, 33, 642–649

Romero, F.M.; Armienta, M.A.; González-Hernández, G. Solid-phase control on the mobility of potentially toxic elements in an abandoned lead/zinc mine tailings impoundment, Taxco, Mexico. *Applied Geochemistry* 2007, 22 109–127

Romero, F.M.; Gutiérrez, R.M. 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

Romero, F.M.; Villalobos, M.; Aguirre, A.; Gutiérrez, M.E. Solid-phase control on lead bioaccessibility in smelter-impacted soils. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 2008, 55, 566–575

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. *Environ. Sci. Technol.* 1993, 27, 2870–2877



Ruby, M.V.; Davis, A.; Schoof, R.; Eberle, S.; Sellston, C.M. Estimation of lead and arsenic bioavailability using a physiologically based extraction test. *Environ. Sci. Technol.* 1996, 30, 422–430

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 M. Advances in evaluating the oral bioavailability of inorganics in soil for use in human health risk assessment. *Environ. Sci. Technol.* 1999, 33, 3697–3705

Ruiz-López, V.; González-Sandoval, M.R.; Barrera-Godínez, J.A.; Moeller-Chávez, G.; Ramírez-Camperos, E.; Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.C. Remoción de Cd y Zn de una corriente acuosa de una empresa minera usando humedales artificiales. *Tecnol. Ciencia Ed. (IMIQ)* 2010, 25, 27-34

Schroder, J.L.; Basta, N.T.; Casteel, S.W.; Evans, T.J.; Payton, M.E.; Si, J. Validation of the *in vitro* gastrointestinal (IVG) method to estimate relative bioavailable lead in contaminated soils. *J. Environ. Qual.* 2004, 33, 513–521

Schubert, ML. Gastric secretion. *Current Opin. Gastroent.* 2005, 21, 633-757

SE. Secretaria de Economía, Minería. Consultado 14 de junio de 2015. <http://www.economia.gob.mx/comunidad-negocios/mineria>

Smith, E.; Naidu, R.; Weber, J.; Juhasz, A. The impact of sequestration on the bioaccessibility of arsenic in long-term contaminated soils. *Chemosphere* 2008, 71, 773–780

Smith, H.L.; Hollins, G.W.; Booth, I.W. Epigastric impedance recording for measuring gastric emptying in children: How useful is it? *J. Pediatr. Gastroent. Nutr.* 1993, 17, 201-206

Sparks, D.L.; Page, A.L.; Helmke, P.A.; Loeppert, R.H.; Soltanpour, P.N.; Tabatabai, M.A.; Johnston, C.T.; Sumner, M.E. *Methods of soil analysis, part 3.* American Society of Agronomy, Madison, 1996

Sposito, G. *The chemistry of soils.* Segunda edición, Oxford University Press 2008, pp. 3-11

Sutherland, R. A. Comparison between non-residual Al, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb and Zn released by a three-step sequential extraction procedure and a dilute hydrochloric acid leach for soil and road deposited sediment. *Applied Geochemistry* 2002, 17, 353–365

Takeda, A.; Tsukada, H.; Takaku, Y.; Hisamatsu, S.; Inaba, J.; Nanzyo, M. Extractability of major and trace elements from agricultural soils using chemical extraction methods: Application for phytoavailability assessment. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 2006, 52, 406–417

Talavera, M.O.; Yta, M.; Moreno, T.R.; Dótor, A.A.; Flores, N.; Duarte, C. Mineralogy and geochemistry of sulfide-bearing tailings from silver mines in Taxco, Mexico area to evaluate their potential environmental impact. *Geofísica Internacional* 2005, 44, 49-64

US EPA. Guidance manual for the integrated exposure uptake biokinetic model for lead in children. February, 1994. Environmental Protection Agency, Office of Emergency and Remedial Response, Washington, DC. US

US EPA. Ecological soil screening level guidance. November 2003. United States Environmental Protection Agency Office of Emergency and Remedial Response, Washington DC. US

US EPA. Guidance for evaluating the oral bioavailability of metals in soils for use in human health risk assessment. May, 2007a. OSWER 9285.7-80. Office of soil waste and emergency response, Washington, DC, US

US EPA. Estimation of relative bioavailability of lead in soil and soil like materials using *in vivo* and *in vitro* methods. May 2007b, OSWER 9285.7-77. Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, DC, US

US EPA. Test methods for evaluating solid wastes. Physical/chemical methods. SW-846 manual. EPA Method 6200. Method field portable X-ray fluorescence spectrometry for the determination of elemental concentration in soil and sediment. February 2007c. United States Environmental Protection Agency, Washington, DC US

US EPA. Test methods for evaluating solid wastes. Physical/chemical methods. SW-846 manual. EPA Method 9045D. Soil and waste pH. November 2004. United States Environmental Protection Agency, Washington, DC, US

Van de Wiele, T.R.; Oomen, A.G.; Wragg, J.; Cave, M.; Minekus, M.; Hack, A.; Cornelis, C.; Rempelberg, C.J.M.; De Zwart, L.L.; Klinck, B.; Van Wijnen, J.; Verstraete, W.; Sips, A.J.A.M. Comparison of five *in vitro* digestion models to *in vivo* experimental results: Lead bioaccessibility in the human gastrointestinal tract. J. Environ. Sci. Health Part A 2007, 42, 1203-1211

Villalobos, M.; Garcia-Payne, D.G.; López-Zepeda, J.L.; Cenicerros-Gómez, A.E.; Gutiérrez-Ruiz M.E. Natural arsenic attenuation via metal arsenate precipitation in soils contaminated with metallurgical wastes: I. Wet chemical and thermodynamic evidences. Aquat. Geochem. 2010, 16, 225-250

Violante, A.; Cozzolino, V.; Perelomov, L.; Caporale, A.G.; Pigna, M. Mobility and bioavailability of heavy metals and metalloids in soil environments. J. Soil. Sci. Plant Nutr. 2010, 10, 268 - 292

Volke, S.T.; Velasco, T.J.A.; De La Rosa, P.D. Suelos Contaminados por metales y metaloides: Muestreo y alternativas para su remediación. México Distrito Federal, México SEMARNAT-INE, 2005, pp. 19-36

Wade, L.G. Química Orgánica. Quinta edición, Madrid, España. Pearson Education, 2004, pp. 1119-1121

Washington, N.; Washington, C.; Wilson, C. Physiological pharmaceuticals: Barriers to drug absorption. Segunda edición, New York, US. Taylor and Francis, 2001

Whitacre, S.D; Basta, N.T.; Dayton, E.A. Bioaccessible and non-bioaccessible fractions of soil arsenic *J. Environ. Sci. Health Part A* 2013, 48, 620–628

Wragg, J.; Cave, M.; Basta, N.; Brandon, E.; Casteel, S.W.; Denys, S.; Gron, C.; Oomen, A.G.; Reimer, K.J.; Tack, K.; Van de Wiele, T.R. An interlaboratory trial of the unified BARGE bioaccessibility method for arsenic, cadmium and lead in soil. *Sci. Total Environ.* 2011, 409, 4016–4030

Yang, M.; 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. *J. Hazard. Mater.* 2009, 171, 443–451

Zapusek, U.; Lestan, D. Fractionation, mobility and bioaccessibility of Cu, Zn, Cd, Pb and Ni in aged artificial soil mixtures. *Geoderma* 2009, 154, 164–169