



Universidad de Valladolid

Facultad de Ciencias

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Máster en Técnicas Avanzadas en Química

**Distribución de elementos tóxicos en sedimentos fluviales del
río Quinto (provincia de San Luis, Argentina)**

Autora: NURIA SAMANIEGO SANTOS

Tutor: Rafael Pardo Almudí



Universidad de Valladolid

Departamento de
Química Analítica

UVa

Rafael Pardo Almudí, Catedrático del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Valladolid, en relación con la SOLICITUD DE DEFENSA Y EVALUACIÓN DEL TRABAJO FIN DE MÁSTER según el Reglamento sobre la elaboración y evaluación del Trabajo Fin de Máster aprobado en Consejo de Gobierno de 3 de febrero de 2012 (BOCyL 20 de febrero de 2012), COMO TUTOR del trabajo "Distribución de elementos tóxicos en sedimentos fluviales del río Quinto (provincia de San Luis, Argentina)" realizado por Dña. NURIA SAMANIEGO SANTOS,

INFORMO QUE:

Dicho trabajo ha sido realizado en el Departamento de Química Analítica de la Universidad de Valladolid bajo mi supervisión. El trabajo tiene como fin caracterizar por primera vez sedimentos fluviales procedentes del río Quinto en Argentina, respecto de sus contenidos totales y fraccionamiento químico B.C.R. de diferentes metales tóxicos. Las muestras nos fueron facilitadas por el Dr. Fabricio D. Cid de la Universidad de San Luis (Argentina) que ha participado activamente en el seguimiento del trabajo. Durante el mismo, la alumna ha procedido a la caracterización cristalográfica de las muestras mediante Difracción de Rayos X y a la determinación de los contenidos totales mediante Fluorescencia de Rayos X. Asimismo, ha puesto a punto y validado los protocolos para la determinación de los contenidos pseudo-totales (norma US-EPA 3051) y del fraccionamiento químico B.C.R. en las muestras de sedimentos por medio de los correspondientes Materiales de Referencia Certificados. Las determinaciones de los metales en los extractos, fueron llevadas a cabo por medio de espectroscopías ICP-OES e ICP-MS, que fueron asimismo optimizadas y validadas. Los resultados generados, se han estudiado por medio de procedimientos quimiométricos multivariantes, Análisis en Componentes Principales clásico y n-way y Análisis de Conglomerados, con objeto de encontrar relaciones entre los comportamientos de las muestras y de los metales analizados.

La alumna NURIA SAMANIEGO SANTOS ha realizado el trabajo satisfactoriamente y con dedicación, demostrando poseer una gran cualificación y capacidad de trabajo y de análisis. Considero que tanto el tema del trabajo como los aspectos científicos desarrollados en el mismo reúnen las condiciones para ser defendidos, ante la correspondiente Comisión Evaluadora, como Trabajo Fin de Máster, por lo que AUTORIZO a la alumna a proceder a su defensa.

Valladolid 25 de junio de 2015

Fdo. Rafael Pardo Almudí

A mi familia por darme todo lo que soy

AGRADECIMIENTOS:

En primer lugar, quiero agradecer a mi tutor Rafael Pardo Almudí toda la ayuda que me ha dado durante la realización de este Trabajo Fin de Máster a lo largo de todo este curso. Además, agradecerle los consejos aportados en diferentes aspectos de mi formación.

En especial, agradecer al Doctor Fabricio D. Cid de la Universidad de San Luis (Argentina) quién planteó el problema y proporcionó las muestras para realizar su análisis. Sin él este Trabajo no podría haberse llevado a cabo.

También agradecer al Departamento de Química Analítica el permitirme utilizar los recursos disponibles en él para la realización de la parte experimental de este Trabajo. En especial, agradecer a Paco de la Rosa y Charo Gómez toda su ayuda y cariño durante estos meses.

Agradecer al Laboratorio de Técnicas Instrumentales de la Universidad de Valladolid permitirme utilizar sus instalaciones y equipos, y en especial a Begoña Ribón, Marta Hernández y Salvador Azpeleta por los conocimientos que me han aportado sobre las diferentes técnicas analíticas.

Por último, agradecer a mis padres y mi hermana todos los consejos y ayuda que me dan en el día a día, sin los que no sabría cómo afrontar muchos momentos de mi vida. También, agradecer enormemente a mi pareja y amigos todo su apoyo tanto en los buenos como en los malos momentos.

En definitiva, gracias a todo aquel que participa de una forma u otra en mi formación como química y en mi mejora personal.

RESUMEN

Los metales pesados, también conocidos como tóxicos, constituyen un grupo de riesgo para el medio ambiente por sus características tóxicas y acumulativas. Estos elementos, entre los que destacan As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn, participan en ciclos biogeoquímicos que en muchos casos tienen como receptor último el ser humano. Aparecen por acciones naturales o por actividad antropogénica y pueden producir a largo plazo problemas en la salud de las personas. En este Trabajo, se han estudiado los sedimentos procedentes del Río Quinto en la región de la Pampa Argentina, ya que es en los sedimentos fluviales o marinos donde estos metales pesados pueden permanecer por un tiempo, para posteriormente ser liberados causando un problema medioambiental.

En este estudio de los sedimentos se han llevado a cabo diferentes análisis: (i) estudio de las fases cristalinas predominantes en los sedimentos, (ii) determinación de los contenidos totales, que se trata del contenido total de los metales en los sedimentos, (iii) determinación los contenidos pseudototales, que representan el total movilizable de los mismos en el sedimento y (iv) un fraccionamiento químico, atendiendo a las diferentes formas físico-químicas o de asociación en las que se pueden encontrar los metales en los sedimentos.

Las fases cristalinas predominantes se han determinado mediante la técnica de Difracción de Rayos X. Por su parte, los contenidos totales se han obtenido a partir del análisis de los sedimentos a través de la técnica de Fluorescencia de rayos X. En el caso de los metales pseudototales se han cuantificado mediante la norma US-EPA 3051, consistente en una digestión ácida asistida por microondas. Por su parte, el fraccionamiento químico se ha llevado a cabo por medio del método B.C.R., que implica extracciones sucesivas con tres extractantes diferentes, para obtener distintas fracciones, correspondientes cada una a diferentes formas físico-químicas o de asociación de los metales en el sedimento.

Los contenidos de As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn metales presentes en los diferentes extractos fueron cuantificados por medio de técnicas espectroscópicas: ICP-OES en el caso de los contenidos pseudototales e ICP-MS para el fraccionamiento químico, validándose los procedimientos mediante los apropiados Materiales de Referencia Certificados.

La fase cristalina predominante en las muestras de sedimentos del río Quinto fue el cuarzo, siendo todas de estructura cristalina similar. Sin embargo, hubo una muestra que destacó del resto al tener como segunda fase predominante la calcita, ausente en el resto de muestras. Los contenidos totales medios fueron del orden de 40 mg/kg para todos los elementos, excepto el Zn que alcanzaba el valor de 80 mg/kg. En el caso de los valores medios obtenidos para los contenidos pseudototales fueron del orden de 10 mg/kg de Cr y Zn, y un orden de magnitud inferior para el resto. En todos los casos estos contenidos movilizables representan menos del 30% del contenido total de metales. Todos ellos se encuentran en concentraciones inferiores a los niveles guía indicativos de peligrosidad medioambiental. El fraccionamiento químico medio mostró que la fracción residual era la mayoritaria para todos los metales en los sedimentos.

Los resultados analíticos fueron también interpretados mediante técnicas quimiométricas multivariantes: Análisis en Componentes Principales, Análisis de Conglomerados y, también,

Análisis Multivía para el fraccionamiento químico. En el análisis de los contenidos totales, se encontró un comportamiento diferencial de Pb y As, así como las muestras con mayores contenidos totales. En el caso de los contenidos pseudototales, se demostró un comportamiento diferencial del As respecto del resto de elementos, además de localizarse con facilidad las muestras con mayor contenido pseudototal. Por su parte, el análisis multivía del fraccionamiento químico aportó que la fracción residual era la que tenía mayor contenido en metales. Además, se observó que la fracción 3 presentaba un alto contenido en Cu en todas las muestras.

Finalmente, observando conjuntamente los resultados obtenidos, se concluyó que los metales presentes en los sedimentos analizados procedentes del Río Quinto, no suponen un riesgo medioambiental ya que se encuentran en la Fracción Residual, la más ligada al sedimento y, por tanto, la menos movilizable.

ABSTRACT

Heavy metals, also known as toxic metals, are dangerous for the environment, because of their poisonous and cumulative characteristics. These elements, among them As, Cd, Cu, Ni, Pb and Zn, take part in biogeochemical cycles having as last receptor, in the majority of the cases, the human beings. They appear in the environment because of natural actions or anthropogenic activities and can produce long-term health problems in people. This work has been focused on the study of sediments collected at the Río Quinto (located in the Argentinean Pampa), because the river and marine sediments act as temporary sinks, where these metals can remain for a long time, to be later released causing an environmental problem.

Different analysis have been carried out in this work: (i) study of the main crystalline phases included in the sediments, (ii) determination of total contents, consisting in the total concentration of toxic metals in the sediments, (iii) measurement of pseudo-total contents, which represent the total mobilizable or available amount of metals in the sediment and (iv) a chemical fractionation procedure, differentiating amongst the several physicochemical or bonding possibilities in which these elements appear in the sediments.

In this study, the principal crystalline phases have been identified by using X-Ray Diffraction technique, while X-Ray Fluorescence technique has been used in the quantification of total contents. Pseudo-total contents have been determined by the US-EPA 3051 norm, a microwave-assisted acid digestion. On the other hand, chemical fractionation has been carried out by the B.C.R. procedure, based on sequential extractions using three different extractantes, in order to obtain several fractions corresponding to different physicochemical or bonding forms of the metals in the sediments.

The concentrations of As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn in the different extracts were quantified by using spectroscopy techniques: ICP-OES for the pseudototal contents and ICP-MS for the chemical fractionation. Besides, both procedures were validated with the appropriated Certified Reference Materials.

Quartz was the major crystalline phase contained in the Río Quinto sediments and all of them have the same crystalline structure, too. However, one of the samples stand out among the others because it had Calcite as second main phase, while in the other samples it was absent. The average total contents were around 40 mg/kg for all the metals, except for Zn which reached the value of 80 mg/kg. On the other hand, the average values obtained for pseudototal contents were about 10 mg/kg for Cr and Zn, and one magnitude order for the other metals. In all cases, these mobilizable contents represent less than 30% of the total content, being under the reference values for environmental risk. On its behalf, chemical fractionation showed that residual fraction was the majoritarian one for all metals in the sediments.

In addition, the results were also interpreted by multivariate chemometrics techniques: Principal Component Analysis, Hierarchical Clustering and also Multivariate Analysis for the chemical fractionation. Firstly, in the case of total contents, a different behaviour was demonstrated for As and Pb as well as the samples with the greatest total contents were determined. In the case of pseudo-total contents, As was the element which showed a different behaviour among the other elements, the samples with large pseudototal contents were easily

located, too. On the other hand, the Multivariate Analysis of chemical fractionation confirmed that the main metal contents were included in the residual fraction. Besides, it was demonstrated that Cu tends to concentrate in Fraction 3 in all samples.

To sum up and by taking in account all the found results, it can be concluded that toxic metals present in the sediments of the Río Quinto, do not pose any environmental risk: their mobilizable or available levels are lesser than the reference values and, moreover, they are mainly concentrated in the Residual fraction, the more bonded to sediment and, therefore, the less available one.

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN	1
1.1	Problemática medioambiental de los metales tóxicos	3
1.2	Fraccionamiento químico y movilidad	4
1.3	Técnicas analíticas	8
1.3.1	Técnicas de Rayos X	8
1.3.2	Técnicas de ICP	11
1.4	Técnicas quimiométricas	14
1.4.1	Análisis en Componentes Principales	14
1.4.2	Análisis de Conglomerados	16
1.4.2	Análisis multivía (N-way)	17
1.5	Área de estudio	19
2	OBJETIVOS	21
3	MATERIALES Y MÉTODOS	25
3.1	Zona y procedimiento de muestreo	27
3.2	Procedimientos analíticos	30
3.2.1	Técnica de difracción de Rayos X	30
3.2.2	Técnica de fluorescencia de Rayos X	32
3.2.3	Determinación de contenidos pseudo-totales	34
3.2.4	Fraccionamiento químico B.C.R.	36
3.2.5	Determinación mediante ICP-OES	38
3.2.6	Determinación mediante ICP-MS	40
3.3	Validación de los procedimientos	42
3.4	Herramientas informáticas	44
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
4.1	Fases cristalinas	47
4.2	Contenidos totales	50
4.2.1	Análisis estadístico univariante	50
4.2.2	Análisis en Componentes Principales	52
4.2.3	Análisis de Conglomerados	56
4.3	Contenidos pseudototales	59
4.3.1	Contenido medio movilizable	60
4.3.2	Evaluación de la peligrosidad medioambiental	61
4.3.3	Análisis estadístico univariante	61
4.3.4	Análisis en Componentes Principales	63
4.3.5	Análisis de Conglomerados	66
4.4	Fraccionamiento químico	69
4.4.1	Fraccionamiento medio	71
4.4.2	Análisis en Componentes Principales	72
4.4.3	Análisis de Conglomerados	76
4.4.4	Análisis Multivía o N-way.....	78
5	CONCLUSIONES	83
6	BIBLIOGRAFÍA	87

Capítulo 1
INTRODUCCIÓN

1.1.- Problemática medioambiental de los metales tóxicos

Ciertos elementos traza y metales pesados, tales como As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn entre otros, constituyen un grupo de elementos ubicuos en la corteza terrestre y en el medio natural y que se asocian con efectos negativos en los campos medioambiental y sanitario. Aunque en ese grupo se incluyen algunos no-metales, como el selenio, o metaloides como el arsénico, la mayor parte de sus componentes son metales, lo que ha hecho que todos ellos fueran conocidos popular y colectivamente como metales pesados, un término muy confuso científicamente (Duffus, 2002; Hodson, 2004; Pardo, 2010). Dicho término en ocasiones se complementa, por razones obvias con el de elementos traza, y en general hoy día tiende a ser evitado, siendo sustituido progresivamente por el de 'metales tóxicos'. Esta denominación no goza aún de consenso absoluto, pero será generalmente utilizada en el presente trabajo para referirnos colectivamente a los elementos estudiados en el mismo.

Todos ellos conforman un grupo muy peligroso de contaminantes medioambientales debido a sus características tóxicas y acumulativas (Härup, 2003; Cruz-Guzmán Alcalá, 2007; Kabata-Pendias, 2011; Alloway 2013): no son biodegradables y tienen unos periodos muy grandes de semi-eliminación de los seres vivos. Participan en ciclos biogeoquímicos globales, circulando por los diversos compartimentos medioambientales hasta llegar a los seres humanos, a través de la cadena alimentaria, pudiendo tener efectos significativos a largo plazo sobre la salud. Mientras que algunos procesos naturales (erupciones volcánicas, incendios...) constituyen una fuente relevante de dichos elementos en el medioambiente, el problema está en las aportaciones por acción antropogénica, tales como la actividad industrial y algunas actividades agrícolas: abonado con residuos urbanos, aguas residuales, residuos ganaderos, etc. (Figura 1).

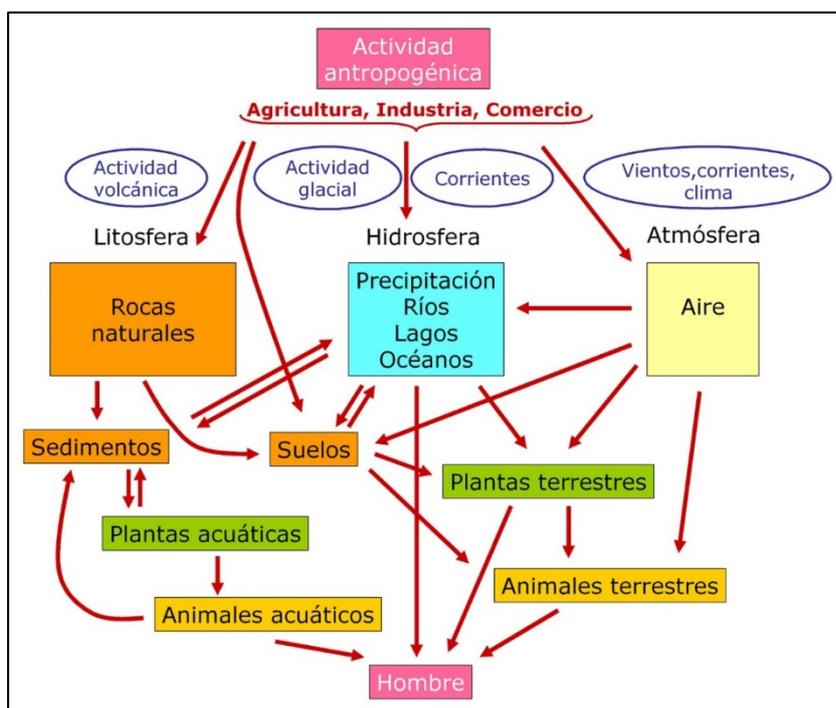


Figura 1.- Ciclo biogeoquímico global de los 'metales tóxicos'

Los suelos y los sedimentos fluviales y marinos pueden actuar como reservorios temporales, de los cuales los metales tóxicos pueden ser removilizados y liberados al medioambiente (Chabukdhara y Nema, 2012). Por este motivo, para estos elementos, se debe considerar como riesgo ambiental tanto su concentración total como la movilidad de los mismos (Ebdon et al, 2001; Yan et al 2007; Pardo et al, 2008;). El contenido total de elementos traza y metales pesados en muestras medioambientales sólidas, tales como suelos o sedimentos, puede evaluarse a través de dos términos diferentes: el contenido total de elementos en la muestra y los contenidos pseudototales.

Por un lado, el contenido total de elementos hace referencia, como su propio nombre indica, a la concentración total de los elementos presentes. Este tipo de contenido puede conocerse mediante la utilización de procedimientos que originen la disolución total de los sedimentos (ataque por fusión alcalina o con mezclas ácidas conteniendo ácido fluorhídrico) o bien mediante el empleo de técnicas de espectroscopía de rayos X (Manceau et al, 2004). Según la técnica de rayos X utilizada se obtendrá un tipo de información u otra. Mediante la técnica de fluorescencia de rayos X se conoce de forma cuantitativa la concentración total de elementos traza y metales pesados que contiene la muestra. Por su parte, el empleo de la técnica de difracción de rayos X permite conocer la fase cristalina de la que se encuentran formando parte los elementos. Entre las fases cristalinas predominantes en los sedimentos se encuentran el cuarzo, los óxidos de titanio y el feldespato. Además, suelen ser abundantes los filosilicatos, óxidos de Al, Fe y Mn, y en ocasiones carbonatos, como la calcita (Manceau et al, 2002). Este contenido de elementos es difícilmente movilizable ya que se encuentra formando parte del retículo cristalino del sedimento.

Por el contrario, los denominados contenidos pseudo-totales muestran el contenido máximo potencialmente movilizable o disponible a largo plazo o en condiciones medioambientales extremas (Sierra et al, 2007; Rao et al, 2008), y que es por tanto capaz de circular con mayor facilidad por los compartimentos medioambientales y la cadena trófica (Figura 1) y llegar en último término al hombre. Permiten por lo tanto, conocer de una manera más realista el máximo riesgo medioambiental. El procedimiento más utilizado es el tratamiento, ayudado con microondas, de la muestra sólida con ácido nítrico concentrado, que es la base de la denominada norma EPA-3051 (USEPA, 1994). Dicho procedimiento ha sido adoptado por muchos países e incluso en nuestra comunidad autónoma de Castilla y León (UTE SINAE-ITSEMAP AMBIENTAL, 1999) y cuenta además con el suficiente número y variedad de Materiales de referencia certificados, como para poder ser validado con perfectas garantías.

1.2.- Fraccionamiento químico y movilidad

Los contenidos pseudo-totales muestran el máximo riesgo medioambiental que una muestra medioambiental sólida tiene a largo plazo, pero los metales tóxicos en suelos y sedimentos pueden existir en diferentes formas químicas y/o de asociación (*binding*) con diferentes toxicidad y movilidad (Rauret, 1993). Mientras que el concepto de especiación

(*speciation*) como ‘determinación de las diferentes formas físico-químicas de un elemento’ (Florence, 1982) ha resultado de gran utilidad en muestras acuosas, el problema es más complejo en muestras sólidas. Por un lado está el problema de las diferentes formas químicas en las que un elemento puede estar presente y que tienen distinto comportamiento en términos de toxicidad y movilidad (véase por ejemplo Henke (2009) para el caso del arsénico) y por otro el de su asociación concreta con la fase sólida (Gleyzes et al, 2002). Todo esto, unido a que la herramienta fundamental para estudios de este tipo sea la extracción/lixiviación con diferentes reactivos químicos, que es fuertemente dependiente de parámetros operacionales, tipo y concentración del reactivo, relación extractante/muestra, temperatura, tiempo de agitación... (Sutherland et al, 2000) hace que los términos preferidos para referirse a esta metodología en el caso de muestras sólidas, sean los de extracción/lixiviación o fraccionamiento químico, antes que al antiguamente utilizado de especiación.

El fundamento del empleo de la extracción/lixiviación, es que la toxicidad y movilidad de los elementos tóxicos en muestras sólidas dependen, tanto de su especie química concreta como también de su forma de asociación al sólido: adsorbido superficialmente, precipitado dentro de minerales primarios o secundarios, complejado por ligandos orgánicos, etc. (Gleyzes, 2000). Por tanto, los cambios de condiciones medioambientales, tales como el pH, el potencial red-ox o el aumento de la concentración de ligandos orgánicos, pueden originar la removilización del metal tóxico de la fase sólida a la líquida y favorecer por tanto la contaminación de las aguas cercanas y por tanto su circulación en el ciclo biogeoquímico global. Por tanto, la identificación de los puntos y fases principales de asociación de dichos elementos en suelos y sedimentos nos ayudará a comprender los procesos geoquímicos subyacentes y a evaluar el potencial de removilización y los riesgos medioambientales que se corren (Sutherland et al 2000).

La extracción/lixiviación se lleva a cabo mediante el tratamiento de la muestra medioambiental sólida con una disolución extractante conteniendo uno o varios reactivos químicos. El proceso puede hacerse en un solo paso (*single extraction procedures*) o en varios (*sequential extraction procedures*). La utilización de un único (*single*) extractante tiene la ventaja en principio de que al menos en teoría se puede conseguir mediante la adecuada elección del reactivo químico, extraer una determinada especie, fase o forma de asociación con el sólido. Entre las fases y fracciones universalmente reconocidas están (Rao et al, 2008):

- *Fracción intercambiable adsorbida inespecíficamente.* Incluye metales retenidos superficialmente por interacciones electrostáticas débiles, que pueden ser removilizados fácilmente por cambios en las concentraciones de K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} o NH_4^+ o el pH del líquido circundante.
- *Fracción intercambiable adsorbida específicamente.* Incluye elementos ligados por fuerzas covalentes y que no son desplazados por K^+ o Ca^{2+} , pero sí por Pb^{2+} o Cu^{2+} , que se emplean para su determinación.
- *Fracción complejada orgánicamente.* Incluye metales procedentes de procesos de complejamiento/bioacumulación. Su determinación se efectúa por oxidación de los complejantes en dos pasos (i) peróxido de hidrógeno y (ii) acetato amónico, lo que implica que también se determinan metales ligados a fases sulfuradas. En la naturaleza, este proceso

se lleva a cabo por aumento del potencial red-ox, por oxidación natural o por degradación bacteriana

- *Fase carbonatada (fracción asociada a carbonatos)*. Fase muy sensible a cambios ambientales naturales que impliquen aumento de la acidez. Los metales ligados se determinan mediante utilización de extractantes ácidos a pH no muy extremo.
- *Fracción asociada a óxidos hidratados de hierro y manganeso*. Estos óxidos conforman uno de los sumideros más habituales para acumular metales tóxicos, y operan por varios mecanismos: coprecipitación, adsorción, complejamiento superficial, intercambio iónico o incorporación al retículo cristalino. Los metales ligados suelen determinarse por medio de reductores de fuerza media como la hidroxilamina, ditionito, citrato y oxalato.

La Tabla 1 presenta un resumen de las fases y los reactivos más utilizados (Ure et al, 1993). Una relación más exhaustiva puede encontrarse en Rao et al (2008).

Tabla 1.- Resumen de fracciones y reactivos

Fracción	Reactivo y concentración
Fracciones intercambiables	KNO ₃ 0,1 mol /L MgCl ₂ 1 mol /L CaCl ₂ 0,05 mol /L Ca(NO ₃) ₂ 0,1 mol /L NH ₄ OAc 1 mol /L pH_7
Fase carbonatada (fracción asociada a carbonatos)	HOAc 0,5 mol /L HOAc:NaOAc 1 mol /L pH 5
Fracción asociada a óxidos hidratados de hierro y manganeso	NH ₂ OH, HCl 0,04 mol /L en medio acético o nítrico Oxalato amónico Ditionito Sódico + Citrato sódico + Bicarbonato sódico (DCB)
Fracción complejada orgánicamente	H ₂ O ₂ NaOCl

La utilización de extractantes únicos (*single extractants*) como los propuestos en la Tabla 1, presenta en principio la ventaja de que se puede liberar una fase o fracción específica. Sin embargo, esto no es estrictamente cierto (Rao et al, 2008) ya que un extractante dado puede en principio movilizar mayoritariamente una fase, pero simultáneamente será capaz de liberar fracciones o fases retenidas con menos fuerza. Este tipo de extracciones/lixivaciones con un único extractante se usan en muchos casos en investigaciones de tipo más agroquímico, en los que se puede correlacionar el contenido lixiviado con otros parámetros propios de los vegetales estudiados.

La información obtenida a partir de la extracción/lixivación con reactivos apropiados a las diferentes fases o fracciones, puede ser aumentada mediante la combinación de una serie de ellos, en un esquema secuencial de extracción/lixivación conocido como fraccionamiento químico, en el cual el residuo de la primera extracción es empleado como material para la

segunda y así sucesivamente. El orden de aplicación de los diferentes reactivos se elige de tal forma que su agresividad o reactividad química vaya aumentando, liberándose así en primer lugar los metales asociados a las fases o fracciones menos retenidas y que presentan por tanto un mayor riesgo medioambiental por su mayor disponibilidad. Según va avanzando el proceso de fraccionamiento, los metales lixiviados presentan una menor disponibilidad y una menor peligrosidad, hasta llegar a fracciones que contienen metales prácticamente inmovilizables (Rao et al, 2008; Okoro et al, 2012).

Con objeto de enfocar el problema de la extracción de elementos traza en suelos y sedimentos, el *Bureau Communautaire de Référence* (B.C.R.), hoy denominado *Standards, Measurements and Testing Program* (S.M.T.P.) de la Unión Europea, comenzó en 1987 una serie de programas de estudio para la armonización de procedimientos de extracción única o secuencial de metales tóxicos en suelos y sedimentos. En 1992, durante una reunión celebrada en Sitges (Barcelona) un grupo de expertos propuso un procedimiento de extracción secuencial que incluye tres pasos y emplea por tanto tres reactivos (Ure et al, 1993): (a) ácido acético, (b) clorhidrato de hidroxilamina y (c) peróxido de hidrógeno, obteniéndose tres fracciones que corresponden de forma aproximada a los metales (a) extraíbles y asociados a carbonatos, (b) asociados a óxidos reducibles de Fe y Mn y (c) asociados a Materia Orgánica y sulfuros, a la vez que daba una serie de recomendaciones prácticas sobre reactivos, matrices analíticas y problemas producidos después de la extracción (Griepink, 1993; Quevauviller et al, 1993). El procedimiento inicial (Ure et al, 1993) fue comprobado, estudiado y validado y sufrió algunas modificaciones hasta alcanzar su forma final (Ure et al, 1999; Rauret et al, 2000) que presenta algunas modificaciones respecto del primitivo, fundamentalmente en el tratamiento de la Fracción 2. La Tabla 2 presenta un esquema del procedimiento B.C.R. (esa es su denominación informal) en su forma actual, adaptado de Mossop and Davidson (2003) que hacen un estudio comparativo de ambas versiones del procedimiento.

Tabla 2.- Resumen esquemático del procedimiento B.C.R.

Fracción	Denominación	Fracciones extraídas	Reactivo
1	Intercambiable y soluble en agua y en ácido	Fracciones, solubles, intercambiables y asociadas a carbonatos	Ácido acético 0,11 M
2	Reducible	Fracción asociada a óxidos hidratados de hierro y manganeso	Clorhidrato de hidroxilamina 0,5 M a pH 1,5
3	Oxidable	Fracción asociada a materia orgánica y sulfuros	Peróxido de hidrógeno seguido de acetato amónico 1,0 M a pH 2

No incluida en el procedimiento B.C.R., está la denominada fracción 'Residual' que puede obtenerse tratando el residuo procedente de la obtención de la Fracción 3 con agua regia (Rauret et al, 2000) o bien por diferencia, restando la suma de las fracciones 1, 2 y 3 del contenido pseudo-total obtenido en una muestra aparte.

El procedimiento B.C.R. se ha venido utilizando a lo largo de estos últimos años, aplicándolo a diferentes matrices medioambientales, suelos (Davidson et al, 1998; Madrid et al, 2007; Pueyo et al, 2008; Pardo et al, 2008), sedimentos (Tokalioglu et al, 2000; Guevara et al, 2004; Kartal et al, 2006; Alomary and Belhadj, 2007), residuos urbanos e industriales (Pardo et al, 2013; Li et al, 2014), suelos vegetales (Kubová, 2008). Para más aplicaciones, ver Okoro et al (2012).

1.3.- Técnicas analíticas

1.3.1.- Técnicas de Rayos X

Con el fin de obtener información acerca del contenido total en metales que presentan los sedimentos bajo estudio, estos son sometidos a un análisis mediante técnicas de rayos X. En nuestro caso, se han utilizado la difracción de rayos X para conocer las fases cristalinas más presentes en los sedimentos (Bermúdez, 1981), y la fluorescencia de rayos X, para determinar el contenido total de metales (Müller, 1972). A continuación se describen estas técnicas.

Difracción de Rayos X

La técnica de Difracción de Rayos X (DRX) es muy utilizada actualmente ya que permite conocer la estructura cristalina de una muestra geológica, como son los sedimentos fluviales, a través de la medida del espaciado atómico. Esta técnica se basa en la interferencia constructiva que se produce al hacer incidir un haz monocromático de Rayos X sobre una muestra cristalina, siempre que de forma simultánea se cumplan las condiciones necesarias enunciadas en la Ley de Bragg. Cuando un haz de rayos X choca contra la superficie de un cristal (Figura 5) formando un ángulo θ , una porción del haz es dispersada por la capa de átomos de la superficie. La porción no dispersada del haz penetra en la segunda capa de átomos donde otra fracción es dispersada y la que queda pasa a la tercera capa. El efecto acumulativo de esta dispersión producida por los centros regularmente espaciados del cristal es la difracción del haz incidente. Para que se produzca esta dispersión es necesario que se cumplan los siguientes requisitos: (i) que el espaciado entre las caras sea aproximadamente el mismo que la longitud de onda de la radiación y (ii) que los centros de dispersión estén distribuidos regularmente en el espacio.

W. L. Bragg enunció en 1912 este fenómeno a través de la Ley que lleva su nombre. En este caso, un haz estrecho choca contra la superficie del cristal formando un ángulo ϑ . Para que se produzcan interferencias constructivas y tenga lugar la difracción se debe cumplir la siguiente expresión conocida como Ley de Bragg

$$n \lambda = 2d \operatorname{sen} \theta$$

donde n es un número entero, λ es la longitud de onda de la radiación incidente y d es la distancia interplanar del cristal o espaciado atómico.

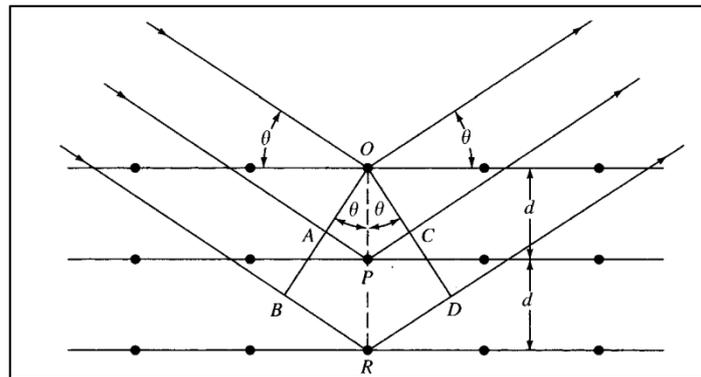


Figura 5.- Difracción de rayos x producida por un cristal

Si se hacen incidir haces de rayos X con un rango de ángulos 2θ , se pueden obtener todas las posibles direcciones de difracción en función de la orientación del material. Convirtiendo estos ángulos en términos del espaciado interplanar se consigue identificar cada uno de los minerales que conforman la muestra, ya que cada uno tiene valores determinados de d .

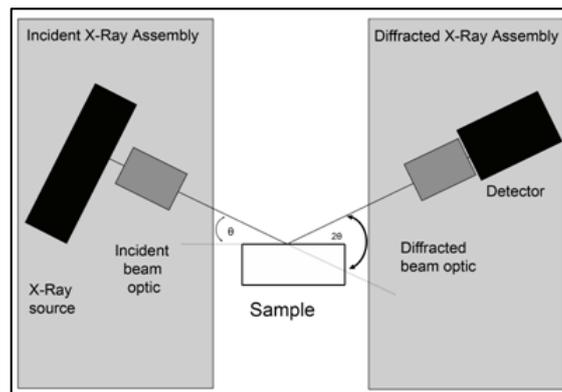


Figura 6.- Esquema de un instrumento de Difracción de rayos X

El instrumento de Difracción de rayos X (Figura 6) está formado por un tubo de rayos X, un soporte para la muestra y un detector de rayos X. La fuente de rayos X es un tubo a alto vacío que contiene un cátodo de filamento de wolframio y un ánodo sólido, formado por un bloque de cobre que soporta un blanco de metal sobre su superficie. Los materiales que constituyen el blanco suelen ser wolframio, cromo, cobre, molibdeno, rodio, etc. Los rayos X son producidos por bombardeo de electrones desde el cátodo de wolframio al blanco de metal (ánodo). A continuación, los rayos X pasan a través de un filtro o un monocromador para conseguir tener un haz monocromático. Tras incidir sobre la muestra, los rayos difractados llegan al detector donde son transformados en una señal cuya intensidad se mide en cuentas. Se obtiene un difractograma ($CPS-2\theta$), donde aparecen los picos de las fases cristalinas presentes en la muestra. Se identifican las fases que están contenidas en la muestra comparando los valores de 2θ correspondientes a los picos con una base de datos que recoge las fases cristalinas típicas en función de la distancia interplanar.

Fluorescencia de Rayos X

La técnica de Fluorescencia de Rayos X (FRX) es una potente herramienta para análisis elemental cuantitativo a nivel de trazas en matrices complejas, como son los materiales geológicos y en concreto los sedimentos fluviales. Esta técnica consiste en exponer la muestra a un haz de Rayos X de alta intensidad provocando la emisión de fluorescencia de rayos X con unos niveles de energía característicos para cada elemento.

Cuando una muestra se excita con radiación de alta energía, como son los Rayos X, los elementos que lo conforman pueden ionizarse. Sin embargo, si la energía de la radiación es suficiente como para arrancar un electrón interno, el átomo se hace inestable y un electrón externo reemplaza al electrón arrancado. Cuando esto sucede se libera energía debido a la diferencia entre las energías de enlace del orbital del electrón interno y el del externo. La radiación emitida es de menor energía que la radiación incidente de rayos X y es conocida como radiación fluorescente. La energía de la radiación fluorescente es característica de una transición entre determinados orbitales de un elemento en particular y la cantidad presente de este, por lo que esta radiación puede usarse para detectar la abundancia de ciertos elementos presentes en una muestra.

El instrumento de Fluorescencia de Rayos X está constituido por una fuente de rayos X, un soporte para muestra y un sistema de detección. Además, contienen elementos ópticos para focalizar y dirigir la radiación hacia la muestra, así mismo contiene colimadores para recoger adecuadamente la radiación fluorescente que es emitida y llevarla hasta los elementos analizadores. Puede distinguirse entre dos tipos de instrumentos de Fluorescencia de Rayos X: Dispersivos de Energía y Dispersivos de Longitudes de Onda.

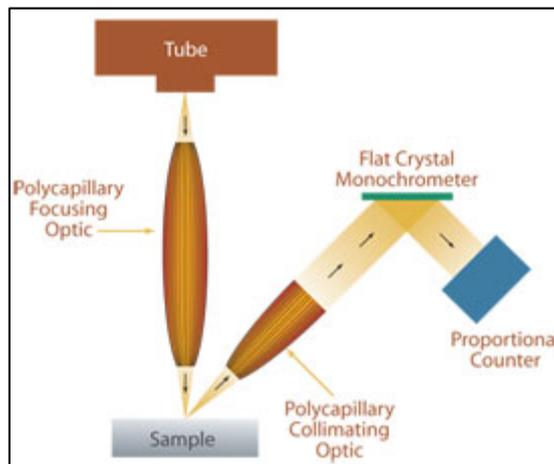


Figura 7- Instrumento FRX Dispersivo de Longitud de Onda

Los instrumentos Dispersivos de Energía (ED-XRF) excitan todos los elementos simultáneamente y un detector dispersivo de energía junto con un analizador multicanal recoge la radiación de fluorescencia emitida por la muestra y separa las energías características de cada elemento. En el caso de los instrumentos Dispersivos de Longitudes de Onda, WD-XRF (Figura 7), todos los elementos también son excitados simultáneamente. Sin embargo, la radiación fluorescente emitida se difracta en diferentes direcciones al incidir sobre un monocromador. El

detector, el cual es una pieza móvil, se sitúa a un determinado ángulo para medir la intensidad de radiación a una longitud de onda determinada. De esta forma, tiene lugar la medida de la energía de la radiación a diferentes longitudes de onda. La principal ventaja de este instrumento es la alta resolución que se alcanza y la ausencia de solapamiento espectral.

1.3.2.- Técnicas de ICP

Una vez separadas las diferentes fracciones o extractos, tres procedentes del esquema BCR y uno de la norma USEPA 3051, se deben determinar los contenidos de los metales tóxicos mediante la correspondiente técnica. En nuestro caso, se han utilizado ICP-OES, para determinar los contenidos pseudototales, y el ICP-MS, para determinar los contenidos de metales del fraccionamiento químico. A continuación, se describe brevemente el fundamento de ambas técnicas (Skoog et al, 2000).

ICP-OES

La espectroscopía de emisión atómica con fuente de plasma de acoplamiento inductivo es una técnica muy utilizada actualmente debido a las grandes ventajas que ofrece. El plasma que es una mezcla gaseosa (Ar) conductora de la electricidad contiene una concentración significativa de cationes y electrones, que de forma neta tiene una carga neutra. Gracias a las altas temperaturas que alcanza el plasma debido a la energía que absorben los iones del gas, se consigue que las interferencias entre elementos sean menores. Por ello, el ICP-OES es una técnica en la que se pueden analizar simultáneamente diferentes elementos. Además, se obtienen buenos espectros de emisión para los elementos a analizar en unas mismas condiciones de excitación. Con esta técnica se consiguen buenos límites de detección, llegando al nivel de trazas.

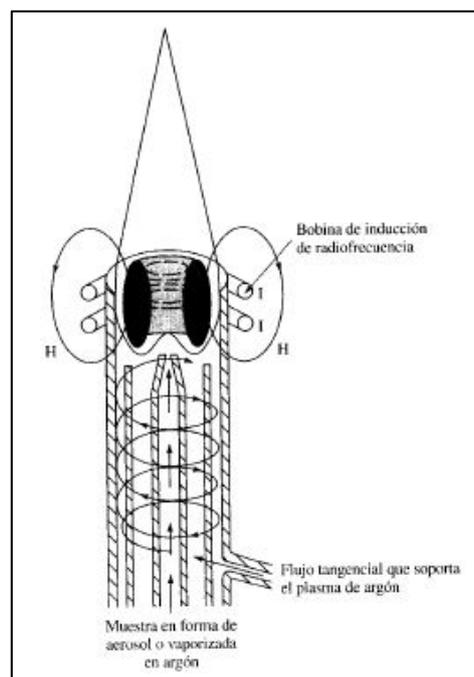


Figura 8.- Antorcha ICP (Skoog et al,2010)

Un equipo de ICP-OES está formado por la fuente de plasma denominada antorcha (Figura 8), consistente en tres tubos concéntricos de cuarzo a través de los cuales fluyen corrientes de argón (5-20 L/min). Rodeando la parte superior del tubo externo hay una bobina de inducción alimentada por un generador de radiofrecuencia capaz de producir una potencia de 0.5 a 2 kW. La ionización del argón que fluye por el tubo interior se inicia por medio de una chispa; los iones y electrones formados interactúan con el campo magnético producido por la bobina de inducción y toman una trayectoria circular. El plasma toma una temperatura elevada que hace necesario el aislamiento térmico del cilindro exterior, haciendo fluir argón de forma tangencial alrededor del tubo.

La introducción de la muestra en el plasma se hace mediante un nebulizador, donde esta se transforma en un aerosol. Debido a las altas temperaturas del plasma, la muestra se atomiza y los elementos se excitan según la altura de observación de la llama, es decir, según de la temperatura alcanzada en cada punto de la llama. Esto tiene lugar al emplear una antorcha radial, colocada perpendicularmente al detector. En cambio, puede hacerse de forma axial, alineando horizontalmente la antorcha con el detector.

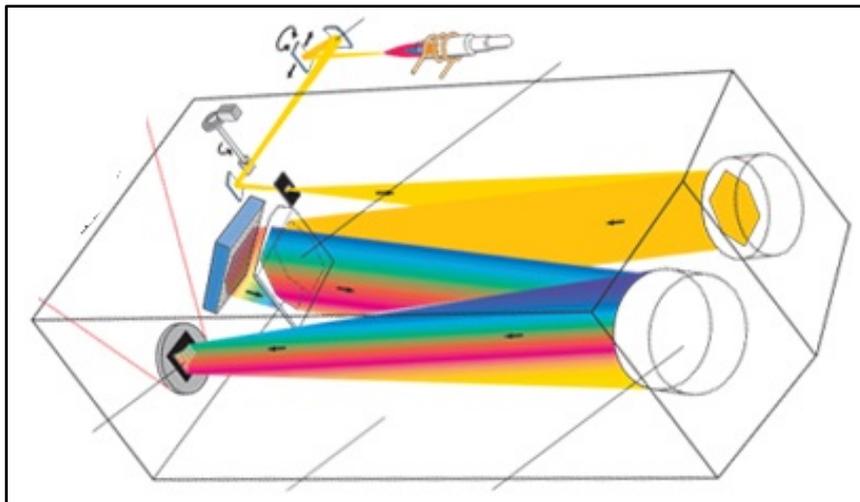


Figura 9.- Esquema del espectrómetro ICP-OES

La detección de la radiación emitida por los elementos excitados se hace mediante un espectrómetro (Figura 9), consistente en un policromador de red de escalera que separa las radiaciones de cada elemento según las longitudes de onda de emisión. Eligiendo la longitud de onda a la cual el elemento emite mayor energía y cuantificando la intensidad de las líneas de emisión, se conocerá el contenido de dicho elemento en la muestra.

ICP-MS

La Espectrometría de Masas con fuente de Plasma de Acoplamiento Inductivo se ha convertido en una de las técnicas más importantes para el análisis elemental, debido a sus bajos límites de detección, alto grado de selectividad y razonable buena precisión y exactitud. La antorcha del ICP sirve en este caso como atomizador e ionizador. La muestra líquida se introduce y el nebulizador se encarga de formar un aerosol. En ocasiones, una vez que se ha formado el

plasma, este pasa a una cámara de reacción/colisión donde se eliminan las especies formadas que puedan ser interferencias a la hora de determinar los iones.

La parte crítica del instrumento es la interfase que acopla la antorcha del ICP que trabaja a presión atmosférica con el espectrómetro de masas que trabaja a vacío. Esto se consigue a través del cono de muestra, a través del cual pasa el plasma a una región donde la presión es menor. En este punto el plasma sufre una expansión rápida produciendo su enfriamiento. A continuación, una fracción del plasma pasa a un segundo cono llamado separador o *skimmer* que lleva a una cámara que se mantiene a la presión del espectrómetro de masas. En este punto se separan los cationes de los electrones y de las especies moleculares mediante un potencial negativo y son enfocados y acelerados por diferentes lentes magnéticas hacia el orificio de entrada del analizador de masas cuadrupolar. Este consiste en cuatro barras cilíndricas paralelas que están conectadas eléctricamente y de forma opuesta, dos a dos, al polo positivo y al negativo de una fuente de corriente continua. De esta forma, los iones irán alcanzando el detector según su relación m/z .

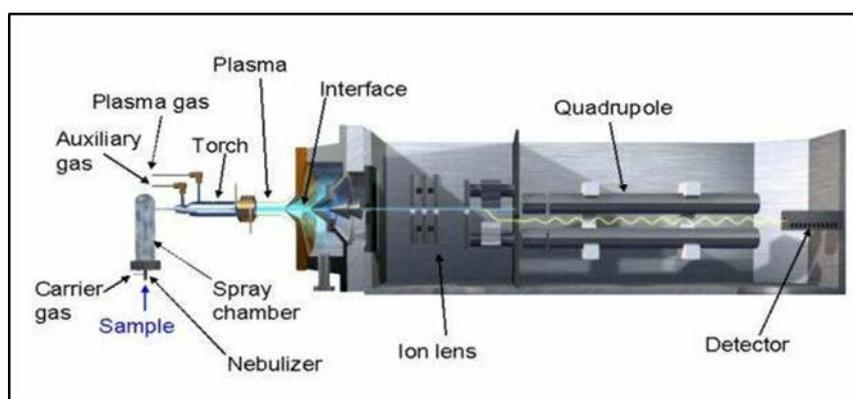


Figura 10.- Esquema de un ICP-MS

Los espectros de masas obtenidos en este caso, son mucho más sencillos de interpretar que los espectros ópticos. La cuantificación de los elementos se hará por medio de la intensidad de las líneas de estos espectros de masas, correspondientes a las relaciones m/z de los elementos deseados. Los ICP-MS consiguen separar iones con una unidad de relación m/z de diferencia. Además, lo hacen en un intervalo dinámico de 6 órdenes de magnitud.

Ambas espectrometrías, ICP-OES e ICP-MS, se vienen utilizando de forma rutinaria en la determinación de metales tóxicos en muestras medioambientales incluyendo estudios de fraccionamiento químico (Pardo et al, 2002, 2004, 2008, 2013; Guevara-Riva et al, 2004, Alomary et al, 2007; Kubová et al, 2008; Pueyo et al, 2008; Karlsson et al, 2010; Okoro et al, 2012).

1.4.- Técnicas quimiométricas

La extracción de información de los datos obtenidos experimentalmente puede hacerse por procedimientos estadísticos clásicos, pero en este caso en que los datos son de naturaleza multivariante, pues se determinan distintas variables (metales) sobre diferentes objetos (fracciones o sedimentos), da lugar a que los datos se puedan presentar en forma de matriz bidimensional. Estos procedimientos permiten visualizar de forma sencilla información no asequible a primera vista en una tabla de datos. En este trabajo, hemos utilizado tres de los procedimientos más habituales; el Análisis en Componentes Principales (A.C.P.), el Análisis Clúster o de Conglomerados (A.C.) y el Análisis Multivía o N-way, cuyo fundamento resumimos brevemente a continuación (Pardo y Barrado, 1988; Ramis y García, 2001; Departamento de Química Analítica, 2013; Vandeginste et al, 1998).

1.4.1.- Análisis en Componentes Principales

El Análisis en Componentes Principales (A.C.P.) es uno de los procedimientos más utilizados para reducir la dimensionalidad de una tabla de datos, bien procedente de una técnica analítica multivariante, o bien de la combinación de una serie de análisis independientes llevados a cabo sobre muestras idénticas. Independientemente de su origen, una tabla de esas características siempre corresponde a la determinación de diferentes variables pertenecientes a distintos objetos y en nuestro caso, la determinación de una serie de metales en diferentes muestras.

Objeto	Variable			
	1	2	...	p
1	X ₁₁	X ₁₂	...	X _{1p}
2	X ₂₁	X ₂₂	...	X _{2p}
...
n	X _{n1}	X _{n2}	...	X _{np}

En estos casos, la información puede ponerse en forma matricial. Cada uno de los n objetos está caracterizado por un vector línea: $\mathbf{x}_i = [x_{i1}, x_{i2}, \dots, x_{ip}]$ formado por los elementos x_{ij} que son los valores de las p variables, los cuales se colocan uno debajo de otro para dar lugar a una matriz \mathbf{X} de dimensiones (n x p). En nuestro caso las variables son los metales y los objetos las diferentes muestras.

Una tabla de datos permite representar cada uno de los n objetos como un punto en un espacio de p dimensiones. El objetivo del A.C.P. es reducir la dimensionalidad de \mathbf{X} de forma que al disminuir el número de variables, hasta un valor $F < p$, la visualización sea más fácil. Para ello, se parte de la hipótesis de que no todas las p variables originales medidas contienen información relevante sobre los objetos y de que algunas de ellas están correlacionadas entre sí, por lo que la reducción en su número hasta F, no implica una pérdida significativa de información. El modelo matemático que se busca es:

$$x_{ij} = \sum_{f=1}^F u_{if} b_{fj} + e_{ij}$$

donde, F es el número de factores o componentes ortogonales significativos del modelo, el cual debe ser tan pequeño como sea posible (2 ó 3). u_{if} son las puntuaciones (o *scores*), es decir los valores que toma para cada objeto cada una de las F nuevas variables. b_{fj} son las cargas (o *loadings*) que muestran como participa cada una de las variables originales en las F nuevas variables, y e_{ij} es el error, es decir la cantidad de información no explicada por el modelo. Los u_{if} se agrupan en una matriz \mathbf{U} ($n \times F$) o matriz de scores, y los b_{fj} en una matriz \mathbf{B} ($p \times F$), por lo que el modelo en forma matricial es $\mathbf{X} = \mathbf{U}^T \mathbf{B}$.

Las puntuaciones, u_{if} , se suelen denominar componentes principales, factores o variables latentes y no coinciden con las variables determinadas experimentalmente, sino que son una combinación lineal de las mismas, participando éstas últimas en las nuevas en una cuantía que depende del grado de información que realmente aportan al conjunto de datos original. Los nuevos F componentes son además ortogonales entre sí, lo que hace que no compartan información los unos con los otros. El algoritmo utilizado por nosotros se basa en la diagonalización de la matriz de correlación, lo que implica un autoescalado previo de todas las columnas a media cero y varianza unidad, lo que evita sesgos indeseados causados por las diferentes magnitudes de las p variables originales.

Los resultados del A.C.P. se presentan mediante una serie de gráficos. El primero, es el gráfico de Scree (o gráfico de sedimentación) en el que se representa la importancia decreciente de cada una de las nuevas variables en la descripción de la información contenida en la tabla \mathbf{X} . Ese gráfico permite elegir los F componentes más significativos y que explican por tanto una mayor cantidad de la información original. Los gráficos de cargas o *loadings* presentan los valores b_{fj} para cada componente F y mostrando la participación de las variables originales en las nuevas. Por su parte, el gráfico de puntuaciones o *scores* muestra los valores, u_{if} , que toman cada una de las nuevas variables para cada uno de los objetos.

La interpretación del A.C.P. se hace visualizando por separado o conjuntamente, los gráficos de cargas y puntuaciones. En general, las variables originales que aparezcan cercanas entre sí en el gráfico de cargas, estarán muy relacionadas entre sí. Asimismo, aquellos objetos que aparezcan cercanos entre sí en el gráfico de puntuaciones, se comportarán de forma similar y se parecerán entre ellos. Por el contrario, aquellas variables u objetos que aparezcan separadas en dichos gráficos, se parecerán muy poco entre sí. Habitualmente, y con el fin de facilitar la interpretación, se representan solo los 2 o 3 primeros componentes, lo cual suele bastar para explicar una cantidad significativamente importante de información.

Las cargas y puntuaciones se pueden representar conjuntamente, en lo que se denominan gráficos bivariado, permiten sacar conclusiones acerca del comportamiento conjunto de objetos y variables. Hay que tener en cuenta que cada gráfico que se construya, explicará una cantidad de información que será la suma de la explicada por cada uno de los componentes representados. En cualquier caso, y salvo excepciones, la cantidad de información representada es inferior al 100%.

En ocasiones se aplican a los resultados del A.C.P. lo que se conoce como rotaciones, entre las que la más conocida es la rotación Varimax. Mediante ella, se sacrifica la condición de

ortogonalidad en aras de encontrar factores más “limpios”, lo que suele complicar la interpretación al aumentar el número de factores o componentes significativos.

El A.C.P. se viene utilizando con profusión en aquellos campos científicos como el medioambiental, en que se conocen una gran cantidad de parámetros químicos correspondientes a muchas muestras (Barbieri et al 1998; Salman y Abu Ruka'h, 1999; Helena et al, 2000; Simeonov et al, 2000; Singh, et al 2007; Salman et al, 2009; Cid et al 2011) o a estudios de fraccionamiento químicos (Pardo et al, 2002, 2004, 2008, 2013; Abollino et al, 2011; Wang, 2014).

1.4.2.- Análisis de Conglomerados

Se trata de un método de Reconocimiento de Pautas (*Pattern Recognition*), que son un conjunto de herramientas de tipo matemático y estadístico, que analizan datos multivariantes y permiten clasificar objetos en clases diferentes de acuerdo con la información proporcionada por una serie de variables. Estos métodos suelen ser divididos en dos grandes grupos en función de si se conocen o no las clases de antemano. El Análisis de Conglomerados (A.C.) es un Métodos de Reconocimiento no Supervisado de Pautas, MRNSP (*Non-Supervised Pattern Recognition*), y su objetivo es precisamente el visualizar la existencia de clases. Como la información aparece en forma de árbol jerarquizado, dendrograma, los métodos A.C. son métodos jerárquicos y de hecho la forma más habitual de referirse a ellos es *hierarchical clustering*.

El procedimiento se basa en agrupar los objetos o las variables en función de su parecido, que se cuantifica por medio del concepto de distancia, el cual tiene que cumplir una serie de propiedades. Así, dados dos objetos A y B, la distancia entre ellos, d_{AB} , debe ser tal que:

$$d_{AB} \geq 0$$

$$d_{AA} = 0$$

$$d_{AB} = d_{BA}$$

Si $d_{AB} < d_{AC}$ es preferible agrupar A y B antes que A y C

De entre las diferentes alternativas (Departamento de Química Analítica, 2013) la más utilizada es la distancia euclídea

$$d_{AB} = \sqrt{\sum_{j=1}^p (x_{Aj} - x_{Bj})^2}$$

En el caso de las variables la distancia se cuantifica en función del coeficiente de correlación, bajo la premisa de que dos variables que se comporten de forma parecida, estarán correlacionadas positivamente, de forma que cuando una aumente, la otra aumente, y cuando una disminuya, la otra disminuya. Así, dadas dos variables i y j , la distancia entre ellas se puede cuantificar como:

$$d_{ij} = 1 - r_{ij}$$

A partir de la matriz de distancias, se construye un dendrograma, diagrama en forma de árbol, en el cual los objetos o variables se van agrupando en función de su distancia. Existen diversos métodos (*linkage methods*) para construir los dendrogramas (Departamento de Química

Analítica, 2013), eligiéndose el que produzca los resultados más fáciles de interpretar. Hay que hacer notar que, al contrario que en el A.C.P., la cantidad de información que se representa en un dendrograma de A.C. es siempre del 100%. La forma del árbol depende del procedimiento de construcción (*linkage*), pero las conclusiones suelen coincidir y apoyar las que se extraen a partir del A.C.P. Ambos métodos coinciden en su objetivo de presentar información multivariante de una forma visualmente comprensible, siendo la principal diferencia entre ambos el que el A.C.P. trata de buscar un modelo matemático para explicar los datos, mientras que el A.C. se limita a agruparlos en función de su parecido.

Los métodos A.C. se emplean de forma rutinaria en multitud de áreas científicas (Singh et al, 2000; Wang et al, 2014). Su aplicación a datos medioambientales se detalla en Smolinski (2002) y en el caso de los procedimientos de fraccionamiento químico en a Giacomino et al (2011)

1.4.3.- Análisis multivía (N-way)

La matriz de datos resultante del fraccionamiento químico BCR es una matriz \mathbf{X} de tres dimensiones [muestras x metales x fracciones]. Esta matriz no se puede estudiar directamente mediante el procedimiento descrito anteriormente del Análisis en Componentes Principales en dos vías. Sin embargo, esta matriz \mathbf{X} puede ser desplegada, del inglés *unfolding*, de forma que se transforme en una matriz bidimensional \mathbf{X}^{aug} con dimensiones [(muestras x fracciones) x metales]. De esta forma, el procedimiento del A.C.P. de dos vías puede utilizarse para estudiar la matriz, denominándose en ese caso AM-ACP (Matriz Aumentada-Análisis en Componentes Principales). Cada uno de los datos estaría explicado mediante el siguiente modelo matemático, similar al del A.C.P.:

$$x_{ij}^{\text{aug}} = \sum_{f=1}^F u_{if}^{\text{aug}} b_{jf} + e_{ij}$$

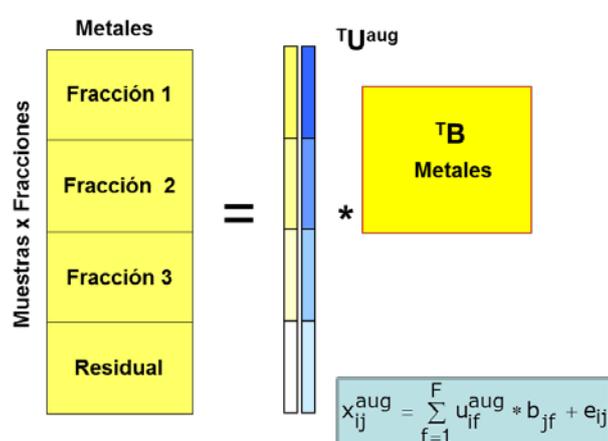


Figura 11.- Esquema del tratamiento estadístico MA-ACP

Esta expresión en forma matricial tiene la forma $\mathbf{X}^{\text{aug}} = \mathbf{U}^{\text{aug}} \mathbf{T}\mathbf{B}$. Los parámetros del modelo tienen el mismo significado que en el A.C.P. de dos vías normal y se interpretan de la misma forma. Sin embargo, la información correspondiente a los scores no permite diferenciar entre

muestras y fracciones, ya que aparecen mezcladas conformando las filas de la matriz \mathbf{U}^{aug} . A pesar de ello, el procedimiento permite una primera visión acerca de las relaciones entre muestras, metales y fracciones.

La mejor forma de extraer la información contenida en una matriz de datos tridimensional es utilizar métodos intrínsecamente N-way que se aplican directamente a la matriz de datos original, en nuestro caso una matriz \mathbf{X} de tres dimensiones [muestras x metales x fracciones] que contiene los resultados del fraccionamiento químico. Los dos modelos n-way más utilizados son el PARAFAC (Parallel Factor Analysis) y el Tucker3. En estos métodos la información contenida en \mathbf{X} origina tres matrices de loadings denominadas como \mathbf{A} (muestras x L), \mathbf{B} (metales x M), \mathbf{C} (fracciones x N) y una matriz \mathbf{G} denominada core (L x M x N) que describe las interacciones entre \mathbf{A} , \mathbf{B} y \mathbf{C} .

En el modelo PARAFAC ocurre que $L=M=N=F$, generalmente 2 o 3, y \mathbf{G} es una matriz identidad. Las soluciones son fácilmente interpretadas de una forma similar al A.C.P. clásico. La expresión matemática que lo describe es la siguiente:

$$x_{ijk} = \sum_{f=1}^F a_{if}b_{jf}c_{kf} + e_{ijk}$$

a_{if} , b_{jf} , c_{kf} son los componentes de las matrices \mathbf{A} , \mathbf{B} y \mathbf{C} y e_{ijk} es la cantidad de información no explicada por el modelo. Las cargas x_{ijk} son los denominados componentes principales y no coinciden con las variables determinadas experimentalmente, sino que son una combinación lineal de las mismas. Para llevar a cabo el PARAFAC se necesita normalizar los datos experimentales a media 0 y varianza 1. A continuación, se evalúa el parámetro de consistencia del core; aquellos factores que tengan este parámetro lo más próximo a 100% serán óptimos para explicar el modelo. Generalmente, suele utilizarse un modelo de dos factores. Cada factor aportará un diagrama de barras para cada una de las matrices \mathbf{A} , \mathbf{B} y \mathbf{C} . De esta forma, las variables que estén orientadas hacia el mismo lado estarán correlacionadas entre sí.

En el modelo Tucker 3, L, M, y N pueden tomar cualquier valor y la matriz del core (\mathbf{G}) es idealmente una matriz superdiagonal, es decir, tiene todo 0 a excepción de la diagonal principal. La expresión matemática que lo describe es la siguiente:

$$x_{ijk} = \sum_{l=1}^L \sum_{m=1}^M \sum_{n=1}^N a_{il}b_{jm}c_{kn}g_{lmn} + e_{ijk}$$

a_{il} , b_{jm} , c_{kn} son los componentes de las matrices de loadings, g_{lmn} son los componentes de la matriz superdiagonal \mathbf{G} , y e_{ijk} es el error. Al igual que en el anterior modelo, los datos experimentales se escalan a media 0 y varianza 1. A continuación, se elige el mejor modelo para explicar la información a partir de un gráfico que relaciona la varianza explicada con la dimensionalidad del modelo. Será aquel que tenga una dimensionalidad pequeña y explica la mayor cantidad posible de varianza. La matriz \mathbf{G} para ese modelo, indicará cuales son las interacciones significativas para explicar el modelo, repartiéndose la varianza explicada entre ellas. La interpretación del modelo se realiza a través de tantos diagramas de barras para las matrices \mathbf{A} , \mathbf{B} y \mathbf{C} como interacciones significativas. Aquellas variables correspondientes al mismo factor que al multiplicarlas entre sí resulten en un signo positivo estarán correlacionadas.

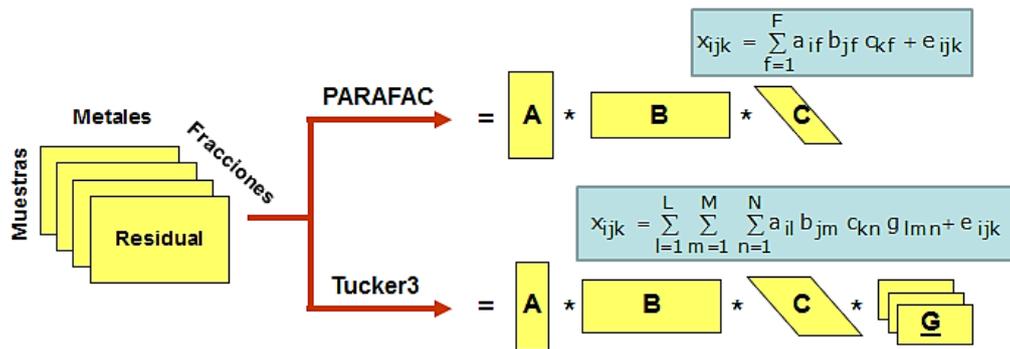


Figura 12.- Esquema de los procedimientos PARAFAC y Tucker 3.

Tanto en el PARAFAC como en el Tucker 3, el modelo buscado debe presentar la mínima complejidad, es decir, valores de F, L, M y N lo más pequeños posible, y a la vez explicar la mayor cantidad de varianza posible.

El Análisis multivía o N-way se viene utilizando ampliamente en aquellos ámbitos científicos como el medioambiental, donde se estudia una gran cantidad de parámetros químicos correspondientes a un elevado número de muestras (Singh et al, 2007; Salman et al, 1999; Pardo et al, 2002, 2004, 2008, 2013).

1.5. Área de estudio

Los métodos y procedimientos descritos más arriba, se han aplicado a muestras de sedimentos procedentes del río Quinto en Argentina. La cuenca del río Quinto (Subsecretaría de Recursos Hídricos, 2014) es de carácter interprovincial y pertenece al Sistema Pampeano. Con sus nacientes en la provincia de San Luis, drena el faldeo oriental de la sierra homónima. Tiene un área de 34.360 km², abarcando parte de las provincias argentinas de San Luis, Córdoba, Santa Fe y Buenos Aires (Figura 13).

La parte de la cuenca correspondiente a la provincia de San Luis, sobre todo la zona del embalse de La Florida, donde se puede considerar que nace realmente el río Quinto, ha sido objeto de diversos estudios medioambientales para cuantificar el nivel de contaminación originado por compuestos organoclorados y metales tóxicos, tanto en la fauna asociada, aves, anfibios, peces, (Cid et al. 2007, Cid et al. 2009, Jofré et al. 2012), como en aguas (Luco et. al. 1992; Cid et al. 2011).

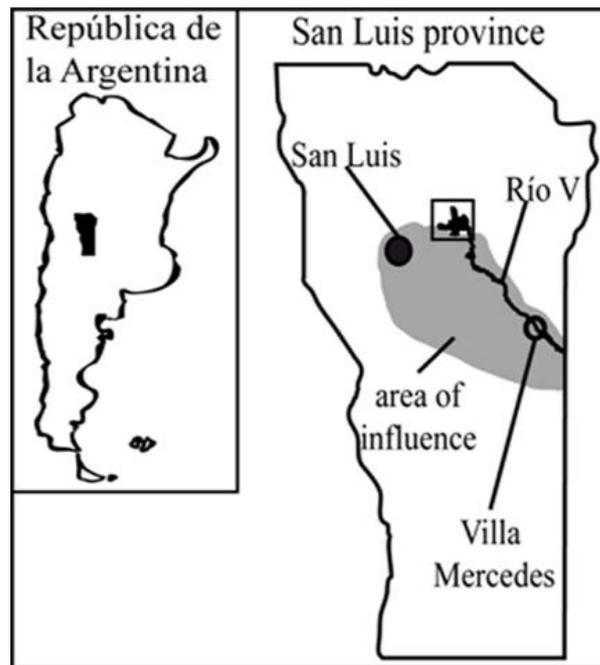


Figura 13.- Localización esquemática del Río Quinto (Cid et al, 2001)

Muchos de esos trabajos han sido publicados por el equipo de investigación del Dr. Fabricio D. Cid de la Universidad de San Luis, con el que colaboran activamente (Cid et al, 2011) los Dres. R. Pardo Almudí (tutor de este Trabajo Fin de Máster) y M. Vega Alegre del Departamento de Química Analítica de la UVa. El Dr. Cid ha suministrado las muestras analizadas en este Trabajo Fin de Máster, que se convierte así en el primer estudio en el que se aborda la problemática de los metales tóxicos, en muestras de sedimentos procedentes del río Quinto.

Capítulo 2
OBJETIVOS

El presente Trabajo Fin de Máster pretende aportar información acerca del contenido y distribución de metales tóxicos (Cr, Ni, Cu, Zn, As, Cd y Pb), en muestras de sedimentos fluviales procedentes del río Quinto (San Luis, Argentina), con el fin último de contribuir al diagnóstico medioambiental del mismo.

Con este fin se han utilizado muestras de sedimentos recogidas a lo largo del cauce del río Quinto, desde su nacimiento hasta que abandona la provincia de San Luis, y que nos han sido proporcionadas por el Dr. Fabricio D. Cid de la Universidad de San Luis.

Dichas muestras se han caracterizado sobre la base de la determinación de:

- Fases cristalinas, a través del empleo de la técnica de Difracción de Rayos X.
- Contenidos totales, mediante la técnica de Fluorescencia de Rayos X.
- Contenidos movilizables o pseudototales, siguiendo el procedimiento descrito por la norma US-EPA 3051.
- Fraccionamiento químico B.C.R., basado en la extracción secuencial de 3 fracciones de movilidad, y en consecuencia peligrosidad medioambiental, decreciente.

Para ello, en primer lugar, se ponen a punto las correspondientes técnicas analíticas, DRX y FRX, necesarias en el estudio directo de los sedimentos, e ICP-OES e ICP-MS, para la determinación de los contenidos de los elementos en los extractos generados. Los procedimientos han sido validados mediante el correspondiente Material Certificado de Referencia.

Los datos generados a través de los procedimientos seguidos han sido estudiados mediante técnicas estadísticas univariantes y multivariantes: Análisis en Componentes principales, Análisis de Conglomerados y Análisis Multivía, en el caso del fraccionamiento químico; con objeto de encontrar las relaciones entre los elementos analizados y sacar la mayor cantidad de información, referente a las relaciones entre los elementos analizados y/o las muestras de sedimentos, extrayéndose las correspondientes conclusiones.

Capítulo 3
MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.- Zona y procedimiento de muestreo

La cuenca hidrográfica endorreica del río Quinto es la más extensa y caudalosa de la provincia argentina de San Luis. Abarca una extensión aproximada de 11.000 km², de los cuales 2.500 corresponden a las sierras y 8.500 a las planicies (Garelis y Bistoni, 2010). El río Quinto (Popopis) nace en el embalse La Florida, lugar donde se unen los ríos Grande (que fluye del norte) y Trapiche (que lo hace desde el oeste). Además, tiene como afluentes los ríos Riocito, Cañada Honda y el Río del Rosario, y los arroyos Saladillo, La Barranquita y La Petra entre otros (Subsecretaría de Recursos Hídricos, 2008) y en su curso se encuentran los Embalses Saladillo, Paso de Las Carretas y Vulpiani. Después del embalse del Paso de Las Carretas, el río Quinto atraviesa una amplia llanura donde se encuentran situadas las ciudades de Villa Mercedes (111.391 habitantes) y Justo Daract (10.135 habitantes), ambas en la provincia de San Luis. A continuación el río entra en la provincia de Córdoba, atraviesa unos 110 km en dirección sudeste a través de una planicie y se subsume en los Bañados de La Amarga (Córdoba), desapareciendo de la superficie. Durante períodos húmedos, el río Quinto sobrepasa ampliamente los Bañados de la Amarga, y se divide en dos brazos. El primero, o brazo norte, aporta sus aguas al Bañado del Destino en los límites de las provincias de Córdoba y Santa Fe. Mucho más importante es el brazo que toma la dirección sur, que llega hasta la provincia de Buenos Aires desembocando en el río Salado, afluente del Río de la Plata.

Las muestras utilizadas en este Trabajo Fin de Grado, fueron proporcionadas por el Dr. Fabricio D. Cid, de la Universidad de San Luis (Argentina). Se tomaron un total de 11 muestras, recogidas en el cauce del río Quinto durante su paso por la provincia de San Luis. Las Figuras 14 y 15 muestran, respectivamente, su posición global y una vista más detallada de los puntos de muestreo. La Tabla 3 resume las principales características de los puntos de muestreo

Tabla 3.- Localización de las muestras

Referencia	Punto de muestreo
RV1	Aguas abajo de la ciudad de Justo Daract
RV2	Aguas arriba de la ciudad de Justo Daract
RV3	Aguas abajo de la ciudad de Villa Mercedes
RV4	Aguas arriba de la ciudad de Villa Mercedes
RV4'	Aguas arriba de la ciudad de Villa Mercedes
RV6	Aguas abajo del embalse del Paso de las Carretas
RV7	Aguas arriba del embalse del Paso de las Carretas
RVSa1	Arroyo Saladillo, afluente del río Quinto, antes del Embalse Paso de las Carretas.
RV8	Aguas abajo del dique Saladillo
RV9	Río Trapiche, aguas arriba del embalse de la Florida
RV10	Río Grande, aguas arriba del embalse de la Florida

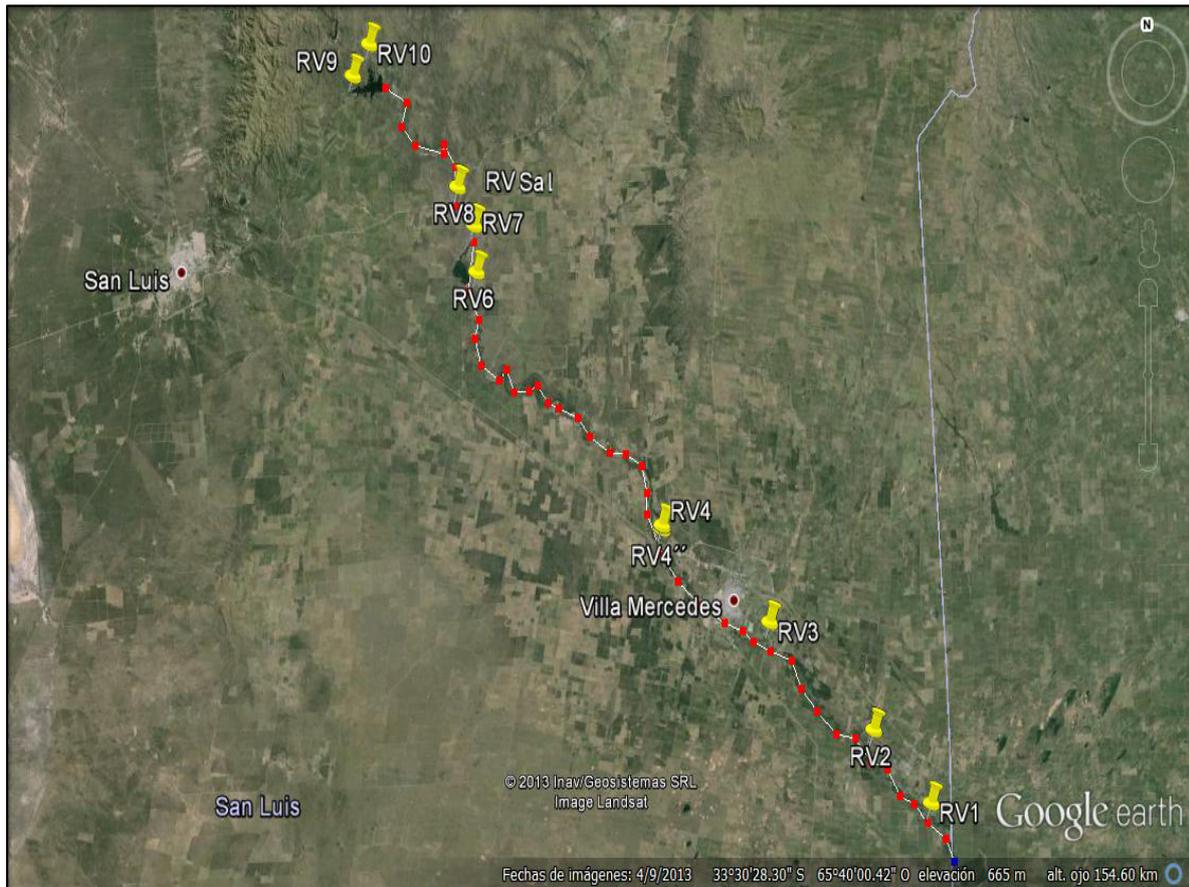


Figura 14.- Localización general de los puntos de muestreo

Las muestras fueron tomadas en el lecho del río utilizando material y recipientes de plástico para evitar contaminación metálica. Una vez llevadas al laboratorio, se secaron al aire y se tamizaron con un tamiz de plástico de 2 mm, almacenándose en bolsas de plástico herméticas. Las muestras fueron posteriormente enviadas por correo aéreo al Departamento de Química Analítica de la UVa, donde se mantuvieron en ambiente hermético y a 4°C.

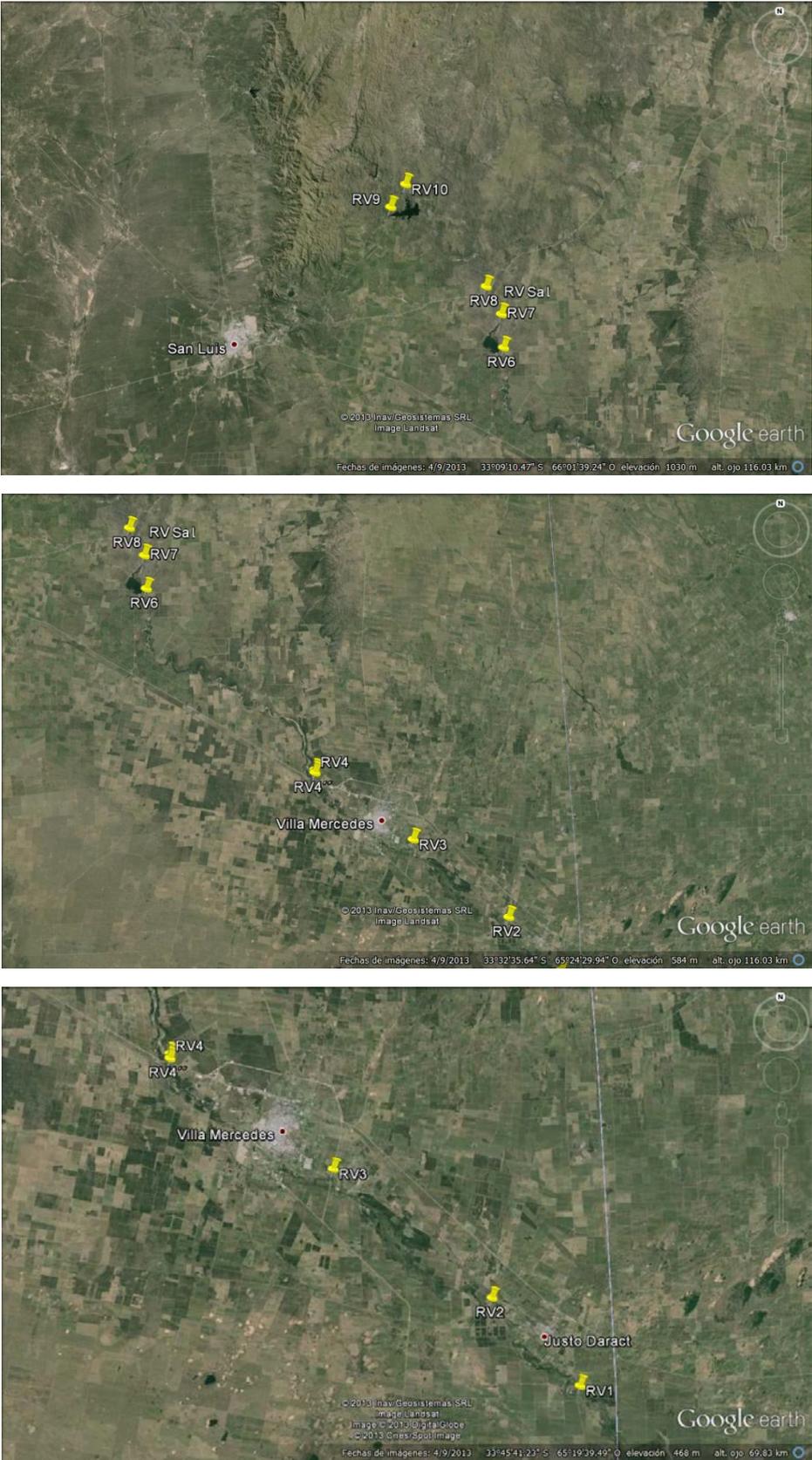


Figura 15.- Detalle de los puntos de muestreo

3.2.- Procedimientos analíticos

3.2.1.- Técnica de difracción de Rayos X

En la determinación de las fases cristalinas mayoritarias en los sedimentos procedentes del río Quinto se empleó la técnica de difracción de rayos X. Antes de llevar a cabo el análisis mediante dicha técnica, fue necesario realizar una preparación de las muestras consistente en moler una cantidad suficiente de cada muestra de sedimentos con el fin de obtener un polvo al que realizar el análisis.



Figura 16. Molino de discos vibratorios

La molienda se llevó a cabo con un molino de discos vibratorios, el cual se emplea para conseguir una molienda ultrafina, rápida, reproducible y sin pérdidas de materiales. Este molino es útil para materiales semiduros o duros como son las muestras de sedimentos, consiguiendo obtener granulometrías finales de 20 μm . El equipo utilizado fue un molino de discos vibratorios RETSCH como el de la Figura 16 ubicado en el Laboratorio de Técnicas Instrumentales de la UVA.

Este molino de discos vibratorios consta de un recipiente de molienda de carburo de tungsteno, formado por dos discos concéntricos (Fig. 17a), y en cuyo interior se sitúa la muestra. El juego de molienda se fija de manera segura sobre el plato vibratorio mediante un gancho a presión (Fig. 17b) y mediante movimientos de vibración circulares en el plano horizontal se produce la molienda, debido a la acción extrema de presión, choque y fricción sobre el material.

Para realizar la molienda, se tomaron 12 g de una de las muestras de sedimentos. La molienda se realizó durante 30 seg. a 1200 rpm. Una vez acabada la molienda, se traspasó la muestra a un vidrio de reloj y se introdujo en la estufa durante 2h a 100°C con el fin de eliminar trazas de humedad que pudiera tener la muestra. Este procedimiento se repitió con cada una de las muestras de sedimentos procedentes del río Quinto.



Figura 17-a. Recipiente de molienda con sedimento molido



Figura 17-b. Funcionamiento de los discos vibratorios

Una vez se tuvieron las muestras de sedimentos en forma de polvo, estas fueron colocadas individualmente en el portamuestras del equipo de DRX de tal forma que la superficie atacable fuera homogénea y uniforme. En nuestro caso, se utilizó un equipo de Difracción de Rayos X BRUKER D8 DISCOVER situado en el Laboratorio de Técnicas Analíticas de la UVa como el de la Figura 18. Este equipo tiene como generador de rayos X un tubo cerámico de Cu que opera a una potencia de 2.2 KW. El detector que se utiliza para la detección del rayo difractado es de tipo LYNXEYE de Bruker dispersivo de energías.

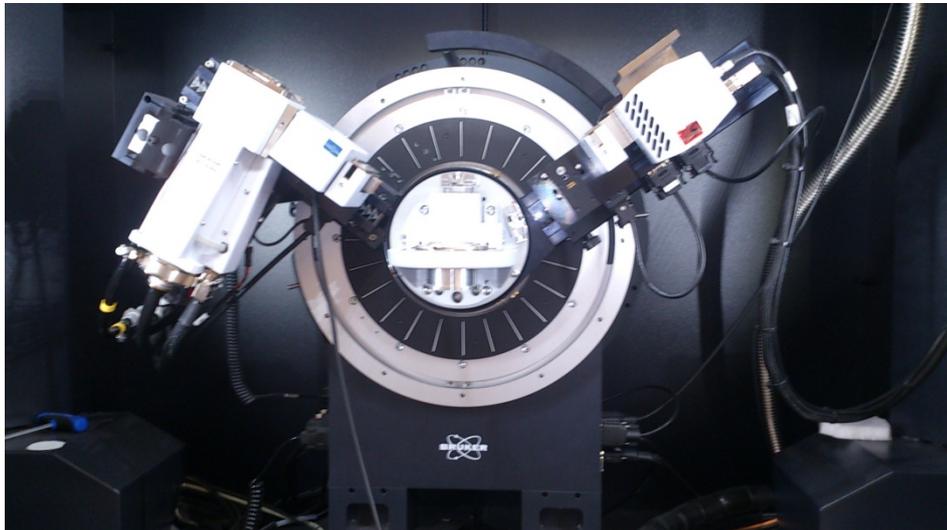


Figura 18. Equipo de difracción de rayos X BRUKER D8 DISCOVER

Los parámetros operacionales del equipo de difracción de rayos X utilizados fueron los siguientes:

Tubo catódico de Cu: Voltaje: 40 kV; Intensidad de corriente: 30 mA

Barrido de ángulos 2θ : Intervalo de medida: desde 5° a 70° ; Tamaño de paso entre medidas: 0.02° ; Tiempo por paso: 0.5 s; Pasos totales: 3180; Tiempo total de medida: 1661 s

Una vez que se produjo la interacción entre la radiación y la muestra, y en los casos que se cumplía la Ley de Bragg, tuvo lugar una interferencia constructiva obteniéndose el haz difractado. Este haz fue detectado y procesado, y el ángulo θ de difracción con el espaciado interatómico d se pudo identificar que fases cristalinas estaban presentes en mayor o menor medida en los sedimentos.

3.2.2.- Técnica de Fluorescencia de Rayos X

La determinación cuantitativa del contenido total en metales de los sedimentos del río Quinto se llevó a cabo mediante la técnica de Fluorescencia de Rayos X. Para la realización del análisis mediante esta técnica la muestra debe estar en forma de pastilla.

Para la preparación de la pastilla de muestra de sedimento, se tomaron aproximadamente 9 g de la muestra molida y seca, traspasándose a un mortero de ágata. Se añadieron 4 mL de una disolución de elvacite al 20% en acetona como conglomerante con el fin de obtener una pastilla consistente y evitar que se rompiera. Se removió y trituroó hasta conseguir una mezcla homogénea de polvo (Fig. 19(b)).

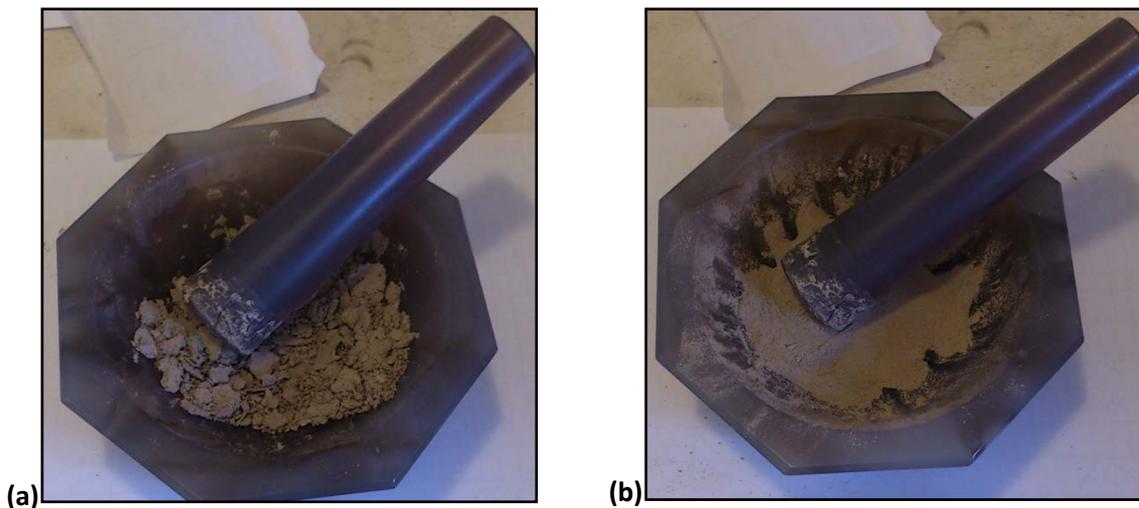


Figura 19. Preparación de pastilla para FRX tras añadir el conglomerante (a) y una vez homogeneizado (b).

Una vez que fue homogeneizada la mezcla, se traspasó todo el contenido del mortero a una prensa hidráulica. En este estudio se utilizó una prensa hidráulica Nannetti (Fig. 20-a) situada en el Laboratorio de Técnicas Instrumentales de la UVa. De esta forma, se obtuvo una pastilla (Fig. 20-b) de un diámetro de 40 mm. Esta preparación de pastillas se llevó a cabo con cada una de las muestras de sedimentos del río Quinto.



Figura 20. Prensa hidráulica (a) y pastilla utilizada en FRX (b)

El análisis de fluorescencia de rayos X se llevó a cabo con un equipo BRUKER S8 TIGER como el de la Figura 21 situado en el Laboratorio de Técnicas Instrumentales de la UVa.



Figura 21. Equipo de Fluorescencia de Rayos X utilizado.

Las características de este equipo son las siguientes:

- *Tubo generador de rayos X de Rh*, que opera a 4 kW
- *Cristales analizadores*: LiF 200, LiF 220, PET y XS-55, según el metal a cuatificar
- *Detectores*: de centelleo, para metales pesados, y proporcional para metales ligeros

La cuantificación de la radiación fluorescente emitida se realizó mediante dos bases de datos de BUKER. Mediante la base de datos QUANT-EXPRESS se realizó el análisis semicuantitativo de los elementos mayoritarios, y junto con la pérdida al fuego se normalizaron los resultados. El análisis cuantitativo de los sedimentos se realizó con la base de datos GEOQUANT útil para la determinación de trazas geológicas. Los parámetros de calibración para los diferentes elementos cuantificados aparecen en la Tabla 4.

Tabla 4.- Parámetros de calibración base de datos GEOQUANT

Elemento	RSD (ppm)	Tiempo de medida (s)	Límite de detección (ppm)	Máx. concentración (ppm)
Cr	12	40	3.3	24000
Ni	6	30	1.5	2640
Cu	7	30	4.7	5400
Zn	11	30	3.8	1310
As	5	100	2.9	330
Pb	10	100	1.5	5500

3.2.3.- Determinación de los contenidos pseudo-totales

Para la determinación del contenido pseudototal de metales de los sedimentos estudiados se utilizó el método descrito en la norma EPA-3051 (USEPA, 1994). Esta norma describe el procedimiento consistente en una digestión ácida de los sedimentos en un horno microondas y posterior análisis mediante las técnicas de ICP-MS ó ICP-OES. Con este procedimiento se consigue conocer la cantidad de metales movilizables que contiene cada sedimento.

El reactivo utilizado fue ácido nítrico concentrado al 65% de calidad P.A. En la digestión de los sedimentos, se utilizó un horno microondas ETHOS PLUS MILESTONE como el de la Figura 23-a, ubicado en el Departamento de Química Analítica (Facultad de Ciencias). Se trata de un equipo cerrado con el que se evitan las pérdidas energéticas y las contaminaciones de las muestras. Consta de 6 vasos de digestión de teflón (TFM) acompañados de sus correspondientes encamisados (Figura 23-b). Uno de los vasos está equipado con un termopar con el fin de controlar la temperatura durante el proceso. El proceso de digestión se basa en una rampa de temperaturas controlada y combinada con agitación, que se consigue por el movimiento semi-rotatorio del carrusel en el que se emplazan los vasos digestores.

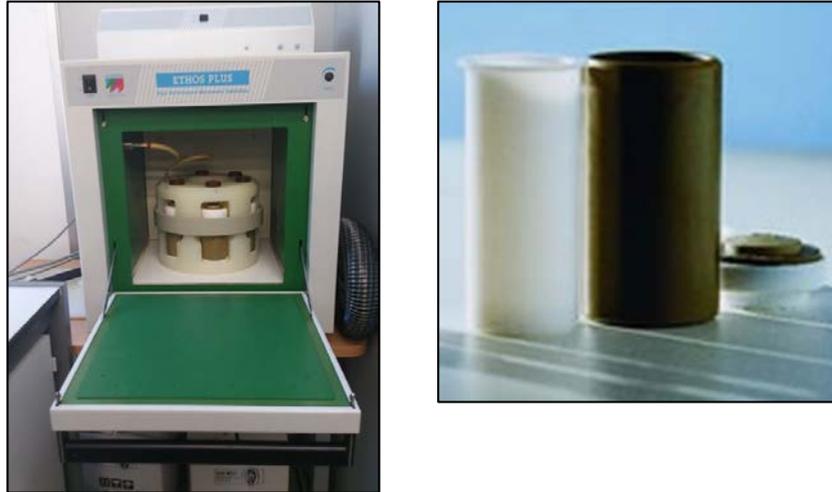


Figura 23.- Horno microondas(a) y vaso de digestión y encamisado (b)..

Los pasos seguidos en el procedimiento fueron los siguientes:

- Toma de 0,25 g de cada sedimento e introducción en 5 de los 6 vasos digestores
- Adición de 5 mL de HNO_3 concentrado a todos los vasos digestores, incluido el que no contiene sedimento, que no debe coincidir con el vaso de control
- Introducción del termopar en el vaso de control
- Introducción del carrusel con los vasos digestores cerrados herméticamente en el horno microondas
- Aplicación del programa EPA-3051 con la rampa de temperatura correspondiente
- Enfriamiento a temperatura ambiente de los vasos digestores
- Traspaso del contenido de los vasos. Incluido el residuo sólido, a matraces aforados de 25 mL y enrase
- Centrifugación de las disoluciones en tubos de centrifuga a 3800 rpm durante 10 min (Figura 24)
- Filtración de la disolución sobrenadante en tubos de polietileno
- Almacenaje a 4°C hasta su posterior análisis

El proceso de digestión se realizó por triplicado para cada muestra de sedimento, por lo que se repitió todo el proceso descrito anteriormente un total de 6 veces, hasta tener todas las muestras digeridas.



Figura 24.- Equipo ALC Centrifuge PK120 utilizado.

3.2.4.- Fraccionamiento químico B.C.R.

El procedimiento B.C.R. consiste en llevar a cabo tres extracciones en forma secuencial (Rauret et al, 2000), aplicando cada extractante al residuo proveniente de la anterior extracción, de acuerdo con el esquema presentado en la Figura 25.

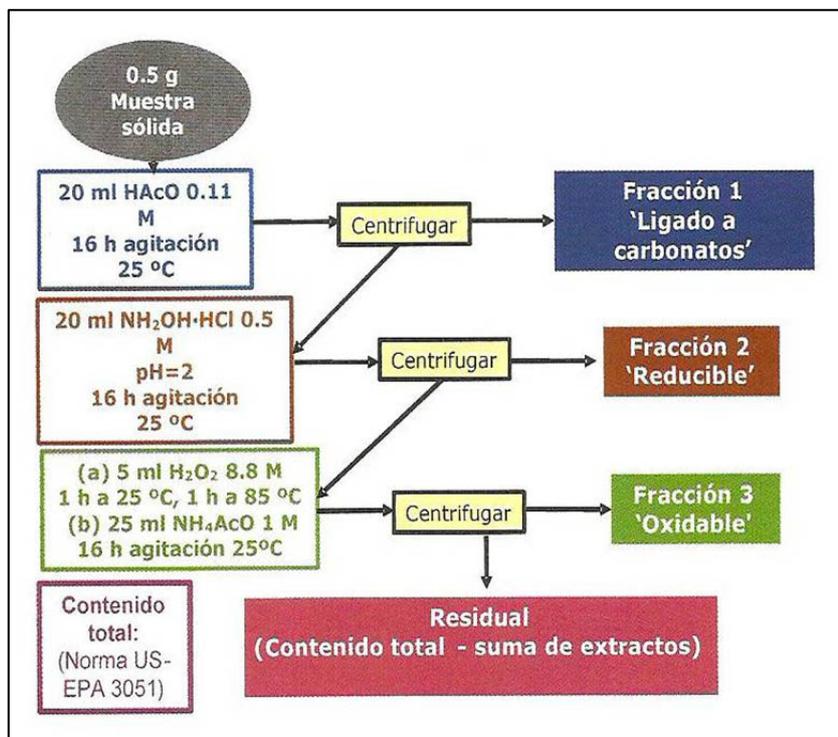


Figura 25.- Fraccionamiento químico B.C.R.

Procedimiento experimental

El procedimiento debe realizarse durante cuatro días seguidos, de los cuales el tercero es el más laborioso, ya que el procedimiento para obtener la Fracción 3 es bastante complicado.

Fracción 1 (Asociada a carbonatos)

El reactivo extractante fue el ácido acético 0,11 M preparado en un matraz de 250 mL a partir de una disolución de ácido acético de 0,43 M. Para la preparación de estas disoluciones se utiliza ácido acético glacial de calidad P.A. y agua destilada. La extracción se llevó a cabo con la ayuda con un equipo Vibromatic, con el que se pueden extraer 8 muestras a la vez: 7 de sedimentos y 1 blanco analítico. Los pasos seguidos durante esta extracción fueron los siguientes:

- Pesaje de 0.5 g de cada sedimento y traspasarlo a tubos de centrifuga
- Adición de 20 mL de HAcO 0,11 M a cada tubo con sedimento y a otro sin sedimento (blanco analítico)
- Extracción mediante agitación en equipo Vibromatic durante 16h a 500 rpm
- Centrifugación durante 25 min a 3900 rpm
- Decantación del extracto en matraces de 50 mL, y reserva del residuo sólido en los tubos de centrifuga
- Filtración de las disoluciones de extractos mediante
- Almacenaje de los extractos a 4°C hasta su análisis

Fracción 2 (asociada a óxidos hidratados de hierro y manganeso)

El reactivo extractante fue clorhidrato de hidroxilamina 0,5 M ($\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$). Esta disolución era necesario prepararla el mismo día de su utilización ya que a lo largo de los días se descompone. En su preparación, se necesitó además una disolución de ácido nítrico 2 M tomándose 6,25 mL de ella para preparar una disolución final de clorhidrato de hidroxilamina de 250 mL. Los pasos seguidos fueron:

- Adición de 20 mL de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ 0,5 M al residuo de la anterior extracción
- Operar como en la anterior extracción

Fracción 3 (asociada a materia orgánica y sulfuros)

En este caso el extractante fue una disolución de H_2O_2 de concentración 8.8 M acidificada a un pH=2. Además, se utilizó un segundo extractante de acetato amónico de concentración 1.0 M, también acidificado a un pH=2. Ambas disoluciones se preparan con reactivos de calidad P.A. y se acidifican con ácido nítrico concentrado P.A. Los pasos seguidos en esta extracción fueron los siguientes:

- Adición de 5 mL de H_2O_2 8.8 M al residuo sólido de la anterior extracción
- Digestión de los residuos a temperatura ambiente durante 1 h
- Digestión en un baño de agua a 85°C durante 1 h con agitación ocasional
- Reducción del volumen de líquido a 1,5 mL mediante ebullición del baño de agua
- Adición de otros 5 mL de H_2O_2 8.8 M y digestión a 85°C durante 1 h con agitación ocasional
- Reducción del volumen de líquido a 0,5 mL mediante ebullición del baño de agua
- Enfriamiento hasta temperatura ambiente de las muestras

- Adición de 25 mL de NH_4AcO 1,0 M
- Extracción mediante agitación en equipo Vibromatic durante 16h a 500 rpm
- Operar como en las anteriores extracciones

Al finalizar el procedimiento, se obtuvieron los extractos resultantes de las tres extracciones para cada sedimento.

3.2.5.- Determinación en los extractos mediante ICP-OES

Mediante esta técnica, denominada propiamente Espectrometría de Emisión Óptica con Fuente de Plasma de Acoplamiento Inductivo, se determinaron los elementos pseudototales en los extractos obtenidos en el tratamiento con la EPA 3051. El equipo utilizado fue un ICP-OES Varian 725ES, ubicado en el Laboratorio de Técnicas Instrumentales de la Uva (Figura 26).

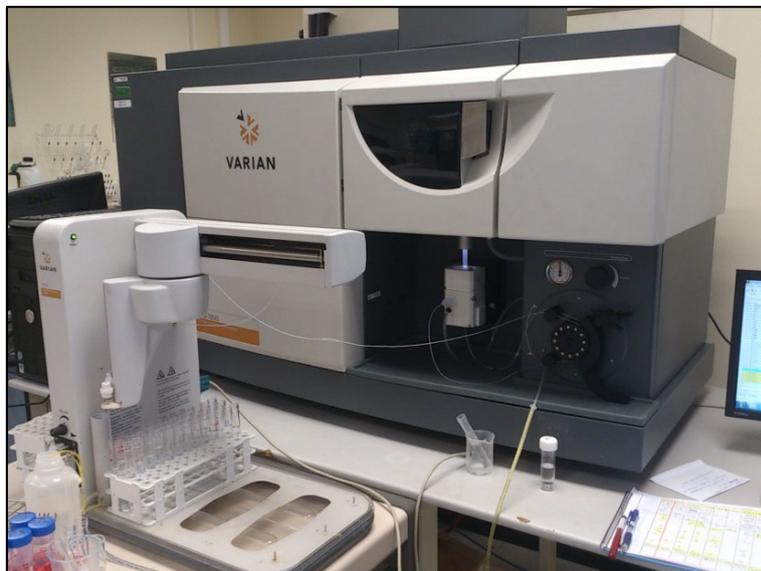


Figura 26.- Espectrómetro ICP-OES Varian 725ES

Los parámetros operacionales del ICP-OES en el análisis de los contenidos pseudototales de metales de los sedimentos fueron los siguientes:

Potencia: 1,30 kW; Flujo de plasma: 15,0 L/min; Flujo auxiliar: 1,50 L/min; Presión del nebulizador: 200 kPA; Altura visión de la antorcha: 10 mm, Tiempo de lectura por réplica: 15 s; Retraso estabilización del instrumento 15 s; Retraso de toma de muestra: 25 s; Velocidad de bomba: 15 rpm; Tiempo máximo de lavado: 20 s; Número de réplicas por muestra: 3

Los elementos se midieron a dos longitudes de onda cada uno (Tabla 5), eligiendo aquella en la que mejores resultados se obtenían.

Tabla 5.- Longitudes de onda (nm) de medida mediante ICP-OES

Cr	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Pb
205.56	221.65	324.75	202.55	188.98	214.44	217.00
267.72	231.60	327.40	213.86	193.70	226.50	220.35

La calibración del equipo de ICP-OES se realizó con un patrón multielemental SCHARLAB de 26 elementos (1000 mg/L) en ácido nítrico 5%, a partir del cual se prepararon por pesada disoluciones de 0,022; 0,045; 0,220; 0,500; 0,990 y 2,000 mg/L. Se obtuvo así una línea de calibrado para cada elemento, seleccionando las longitudes de onda en función de las interferencias producidas. La Tabla 6 muestra un resumen de los parámetros de las líneas de calibrado obtenidas a lo largo de la experimentación. La Figura 27 muestra la línea de calibrado correspondiente al Cr.

Tabla 6.- Parámetros típicos de líneas de calibrado de ICP-OES

Elemento	λ (nm)	Ordenada en el origen (I)		Pendiente (I.L/mg)		r^2
		Valor	Intervalo	Valor	Intervalo	
Cr	205,56	8,48	-4,75 - 12,20	590,81	586,52 - 595,10	0,999
Ni	231,60	1,75	-9,23 - 14,74	242,07	229,42 - 254,73	0,998
Cu	327,40	18,39	-6,65 - 43,44	1832,11	1803,28 - 1860,95	0,999
Zn	202,55	6,45	-2,92 - 15,82	971,82	961,04 - 982,61	0,999
As	188,98	3,42	-0,53 - 6,31	50,42	47,09 - 53,75	0,996
Cd	226,50	13,71	-6,99 - 34,41	2324,04	2300,21 - 2347,86	0,999
Pb	220,35	4,58	-0,07 - 9,09	101,72	96,53 - 106,92	0,998

Los límites de detección (LOD) para cada elemento, fueron calculados a partir de la siguiente expresión (Massart et al, 1997):

$$x_{LD} = \frac{2 t_{crit} s_{bl} \sqrt{1 + 1/n}}{b_1}$$

donde s_{bl} es la desviación estándar de las n réplicas del blanco analítico, n el número de réplicas (en este caso 7) y b_1 la pendiente de la línea de calibrado para cada elemento. La Tabla 7 muestra los valores obtenidos en mg/kg utilizando las masas y volúmenes indicados en 3.2.3.

Tabla 7.- Límites de detección (mg/kg) para ICP-OES

Cr	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Pb
0,839	0,90	0,732	3,918	1,159	0,139	0,586

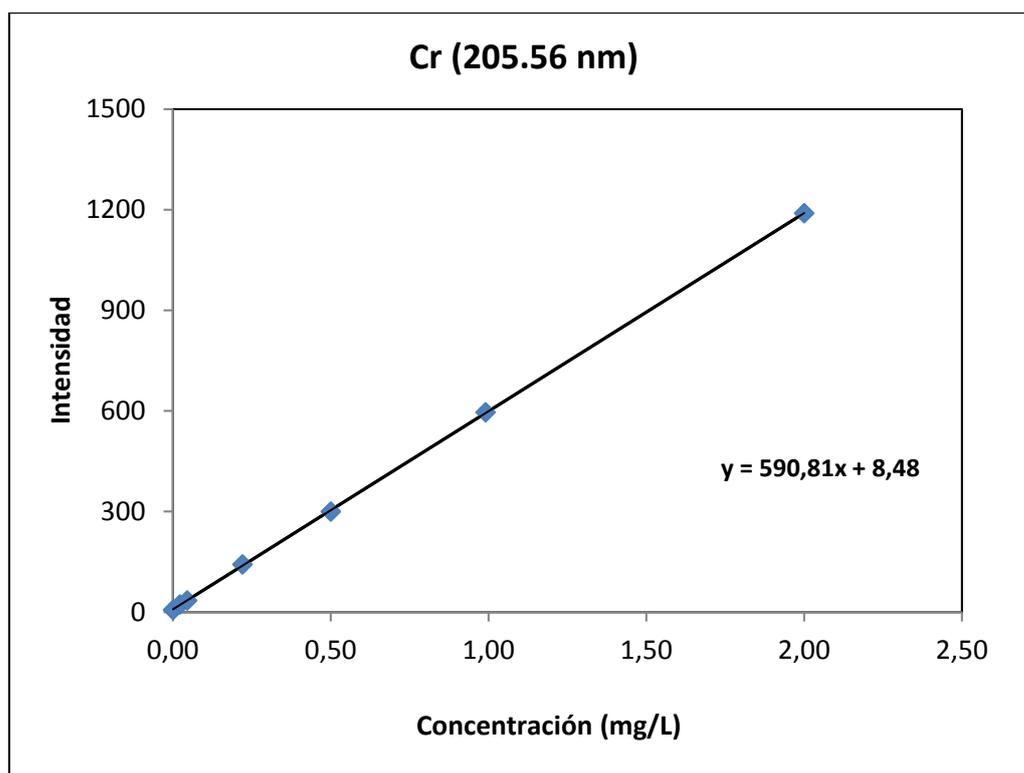


Figura 27.- Línea de calibrado del Cr mediante ICP-OES

3.2.6.- Determinación en los extractos mediante ICP-MS

Esta técnica, denominada propiamente Espectrometría de Masas con fuente de Plasma de Acoplamiento Inductivo, ha sido utilizada para determinar los contenidos en los extractos del fraccionamiento químico B.C.R. Permite cuantificar la mayoría de los elementos en un rango dinámico lineal de 8 órdenes de magnitud (ng/l - mg/l), con unos límites de detección para la mayoría de los elementos de unas pocas ppb – ppt.

El equipo utilizado fue un espectrómetro AGILENT 7500c equipado con un sistema de reacción octopolar y ubicado en el Laboratorio de Técnicas Instrumentales de la UVA (Figura 28). Los parámetros operacionales del equipo fueron los siguientes:

Parámetros del Plasma: Potencia de radiofrecuencia: 1530 W; RF Matching: 1,68 V; ; rofundidad de muestreo: 7,4 mm; Altura de la antorcha: -0,3 mm; Flujo portador: 1,05 L/min; Flojo generador de plasma: 0,15 L/min; Bomba nebulizadora: 0,15 rps

Lentes : Lente de extracción: 4,4 V; Lentes Einzel 1,3: -80 V; Lente Einzel 2: 10,5 V; Entrada a la celda: -20 V; Salida de la celda: -23 V

Octopolo: Radiofrecuencia: 190 V; Desviación: -15 V; *Celda de reacción/colisión;* Gas H₂: 0 mL/min; Gas He: 3,5 mL/min

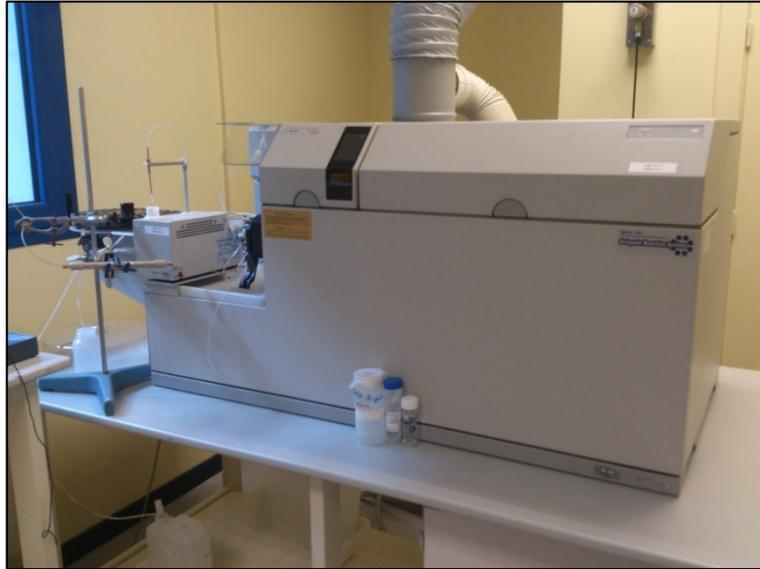


Figura 28. Espectrómetro ICP-MS AGILENT 7500c.

Se estudiaron dos posibles isótopos de cada metal (Tabla 8), eligiendo aquel con el que se obtenían mejores resultados.

Tabla 8.- Isótopos de los elementos

Cr	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Pb
52	60	63	66	75	111	206
53	62	65	68			208

Los extractos B.C.R. se analizaron mediante el método de patrón interno o patrón externo. Como patrón interno se utilizó un patrón multielemental de 50 µg/L de Sc (45), Ge (72), Y (89) y Tb (159), cubriendo un amplio rango de masas y que sirven para que no derive el equipo con el tiempo y eliminar interferencias de matriz. Las líneas de calibrado se prepararon a partir de un patrón multielemental SCHARLAB de 26 elementos en ácido nítrico 5%, obteniendo finalmente una serie de patrones con concentraciones entre 1 y 100 µg/L. Debido al elevado número de muestras y diferente matrices, las determinaciones se hicieron en tandas con diferentes líneas de calibrado. A modo de ejemplo la Tabla 9 y la Figura 29, resumen los parámetros de las líneas de calibrado de la Fracción 3 (patrón externo) y la línea de calibrado del ^{111}Cd , respectivamente.

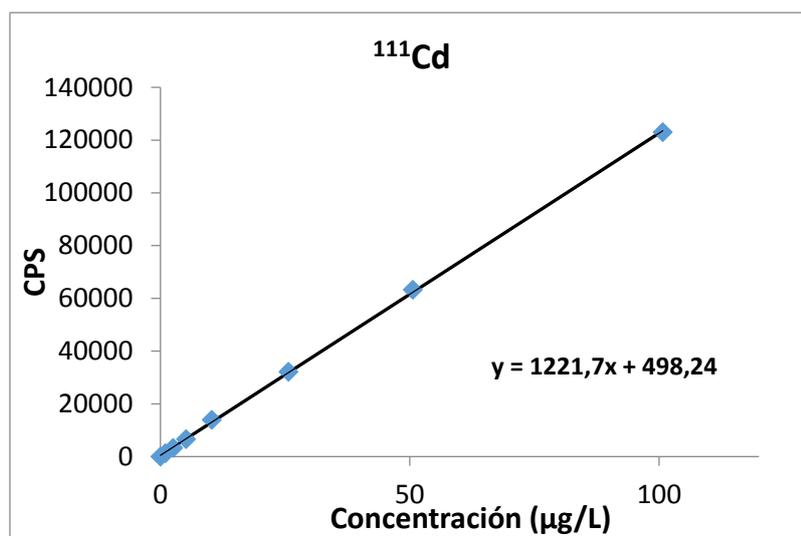


Figura 29.- Línea de calibrado de ^{111}Cd en la Fracción 3.

Tabla 9.- Parámetros típicos de líneas de calibrado de ICP-MS

Elemento	Isótopo	Ordenada en el origen (CPS)		Pendiente (I.L/ μg)		r^2
		Valor	Intervalo	Valor	Intervalo	
Cr	53	386,5	-67,8 - 840,9	614,4	603,3 - 625,4	0,999
Ni	60	1041,8	-300,3 - 2384,0	1802,7	1770,1 - 1835,4	0,999
Cu	65	1785,5	-180,2 - 3390,7	2219,2	2180,1 - 2258,2	0,999
Zn	68	485,2	-143,4 - 1113,8	762,3	747,0 - 777,6	0,999
As	75	131,1	-62,5 - 324,8	640,6	635,9 - 645,3	0,999
Cd	111	498,2	-209,7 - 1206,1	1221,7	1204,4 - 1238,9	0,998
Pb	206	1999,3	-490,2 - 4488,9	614,4	603,3 - 625,4	0,9998

La Tabla 10 muestra los límites de detección (mg/kg) de cada elemento en cada extracto, en función de las masas y volúmenes indicados en 3.2.4, y calculados de forma análoga a como se hizo en los casos anteriores.

Tabla 10.- Límites de detección (mg/kg) para ICP-MS

Fracción	Cr	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Pb
1	0,320	0,021	0,102	1,149	0,118	0,085	0,131
2	0,102	0,058	0,086	0,461	0,086	0,031	0,502
3	0,081	0,104	0,119	1,367	0,045	0,254	1,181

3.3.- Validación de los procedimientos

Los procedimientos descritos en 3.2.3 (determinación de contenidos pseudototales mediante la EPA-3051) y 3.2.4 (fraccionamiento químico B.C.R.), fueron validados con el adecuado

Material de Referencia Certificado: ERA 540 (Lot No. D054 Method 3051 HNO₃) para la EPA-3051 y MRC 601 para el fraccionamiento BCR. Las tablas 11 Y 12 muestran los resultados obtenidos por nosotros. Los intervalos de confianza obtenidos se han calculado a partir de los correspondientes valores de $t_{\text{crítico}}$, con un nivel de confianza del 95% y los adecuados g.d.l.

Tabla 11.- Valores certificados y obtenidos en la validación del MRC 540

ELEMENTO	Valor certificado mg/kg	Intervalo certificado	Intervalo obtenido*
Cr	118	98,1-138	89,2-116,5
Ni	99,8	82,0-118	26,9-106,8
Cu	82,5	69,1-95,9	49,2-94,4
Zn	116	96,7-135	97,5-126,2
As	152	119-185	56,5-194,2
Cd	95,2	81,1-109	77,8-90,4
Pb	120	100-140	77,9-129,8

* A partir de 4 réplicas

Tabla 12.- Valores certificados y obtenidos en el análisis del MRC 601

Metal	Valor certificado mg/kg	Incertidumbre	Intervalo certificado	Intervalo obtenido *
Extracción 1				
Cr	0,35	0,08	0,11 - 0,59	0,44-0,78
Ni	7,82	0,84	5,3 - 10,34	2,8 - 11,5
Cu	10	0,8	7,6 - 12,4	7,0 - 13,5
Zn	261	5	246 - 276	196,7 - 318,0
Cd	4,45	0,67	2,44 - 6,46	2,5 - 5,1
Pb	2,28	0,44	0,96 - 3,6	1,87-2,54
Extracción 2				
Cr	10,6	0,9	7,9 - 13,3	7,5-13,2
Ni	10,6	1,20	7 - 14,2	5,8 - 13,6
Cu	73,8	4,9	59,1 - 88,5	42,2 - 68,1
Zn	266	17,0	215 - 317	166,3 - 280,6
Cd	3,95	0,53	2,36 - 5,54	0,7 - 5,1
Pb	205	11,0	172 - 238	97,2 - 225,3
Extracción 3				
Cr	14,4	2,6	6,66 - 22,6	12,1-18,5
Ni	6,04	1,27	2,23 - 9,85	4,4 - 9,0
Cu	78,6	8,9	51,9 - 105,3	58,7 - 124,2
Zn	106	11	73 - 139	61,4 - 148,5
Cd	1,91	1,43	0 - 6,2	0,1 - 1,3
Pb	19,7	5,8	2,3 - 37,1	18,9-43,5

* A partir de 5 réplicas

En todos los casos los intervalos de confianza obtenidos se solapan con los certificados, por lo que la validación de ambos métodos se puede considerar satisfactoria.

3.4.- Herramientas informáticas

Los cálculos numéricos y estadísticos han sido realizados mediante EXCEL 2010, STATSGRAPHICS Centurion XVI, MINITAB 16 y MATLAB 2013B.

Capítulo 4
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1.- Fases cristalinas

Las muestras geológicas, como es el caso de los sedimentos del río Quinto, pueden presentar gran variedad de fases cristalinas conformando su estructura cristalina. El análisis de los sedimentos mediante la técnica de difracción de rayos X permite conocer las fases cristalinas más abundantes en dichas muestras.

La Tabla 13 muestra las fases cristalinas presentes según su grado de abundancia en cada una de las muestras de sedimentos estudiados.

Tabla 13.- Fases cristalinas más abundantes

Muestra	Fases cristalinas							
	Cuarzo	Plagioclasas	Feldespato de K	Moscovita	Hematita	Anfíbol	Caolinita	Calcita
RV1	A	M-B	B	B	I	I	-	-
RV2	A	M-B	B	B	I	-	-	-
RV3	A	B	B	B	-	-	-	-
RV4	A	B	B	B	I	I	-	-
RV4A	A	B	B	B	I	I	-	-
RV6	A	B	B	B	I	I	-	-
RV7	A	B	B	B	I	I	-	-
RV8	A	B	B	B	I	I	-	-
RV9	A	B	B	B	I	I	-	-
RV10	A	M-B	B	B	I	I	I	-
RVSAL	A	B	B	B	I	I	I	M-B

Grado de abundancia: A = Abundante, M = Media, B = Baja, I = Indicios

La fase cristalina principal en todos los sedimentos es el cuarzo (SiO_2), algo lógico ya que es el mineral más abundante en la litosfera. Le sigue de cerca el feldespato de potasio (KAlSi_3O_8), la moscovita ($\text{KAl}_3\text{Si}_3\text{O}_{10}(\text{OH})_2$) y las plagioclasas ($(\text{Ca},\text{Na})\text{AlSi}_3\text{O}_8$), tanto anortita (Ca) como albita (Na). De forma prácticamente presencial todos las muestras de sedimentos contienen hematita (Fe_2O_3) y anfíbol ($\text{Ca}_2(\text{Mg},\text{Fe})_5\text{Si}_8\text{O}_{22}(\text{OH})$). Sin embargo, de forma diferencial se observa que las muestras RV10 y RVSAL contienen también de forma diferencial al mineral caolinita ($\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$). Por su parte, la muestra RVSAL, procedente del arroyo Saladillo, es la única de las muestras que contiene como segunda fase cristalina más abundante a la calcita (CaCO_3).

Estas tendencias diferenciales se pueden observar en los difractogramas correspondientes a cada una de las muestras. A continuación la Figura 30, presenta el difractograma de la muestra

RV1 como ejemplo del resto de muestras. Por su parte, la Figura 31 muestra el difractograma de la RV10 por ser una de las muestras con fases cristalinas diferentes.

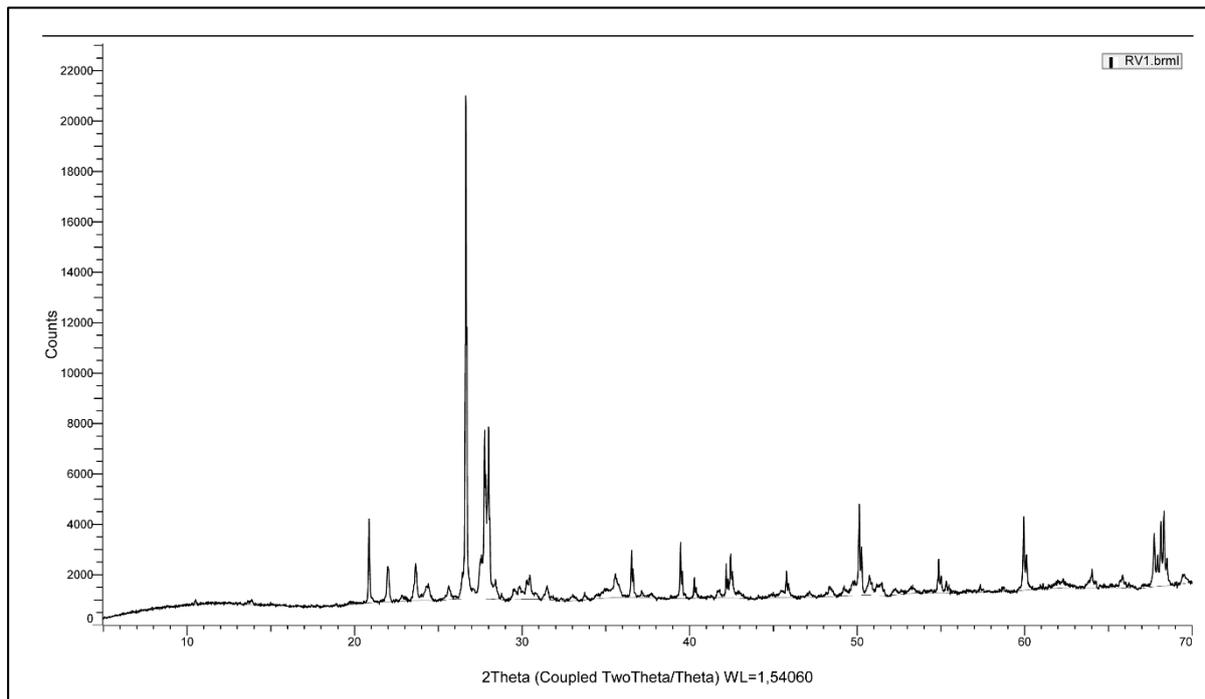


Figura 30.- Difractograma muestra RV1

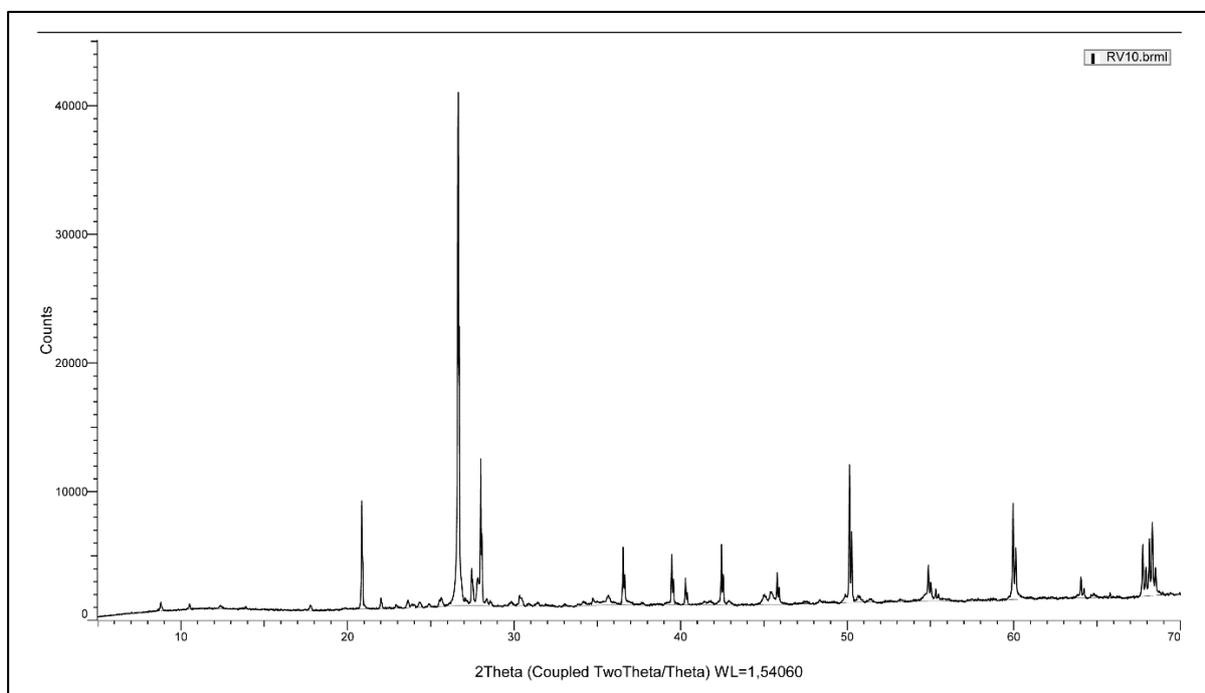


Figura 31.- Difractograma muestra RV10

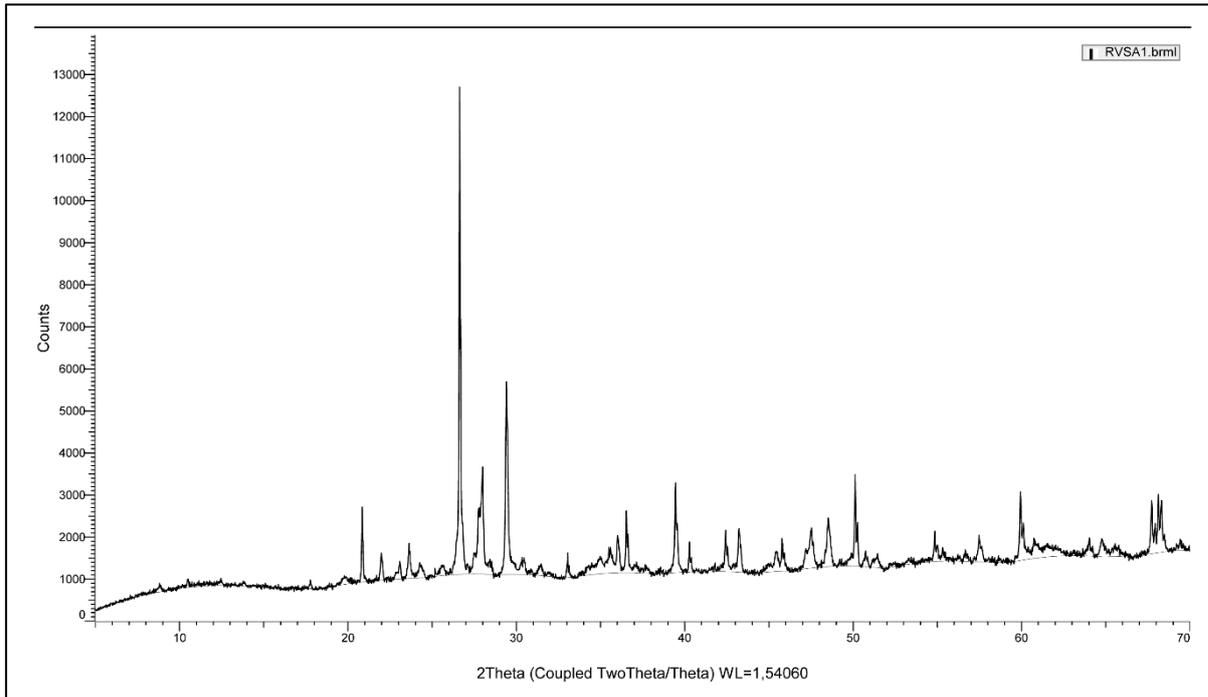


Figura 32.- Difractograma muestra RVSA1

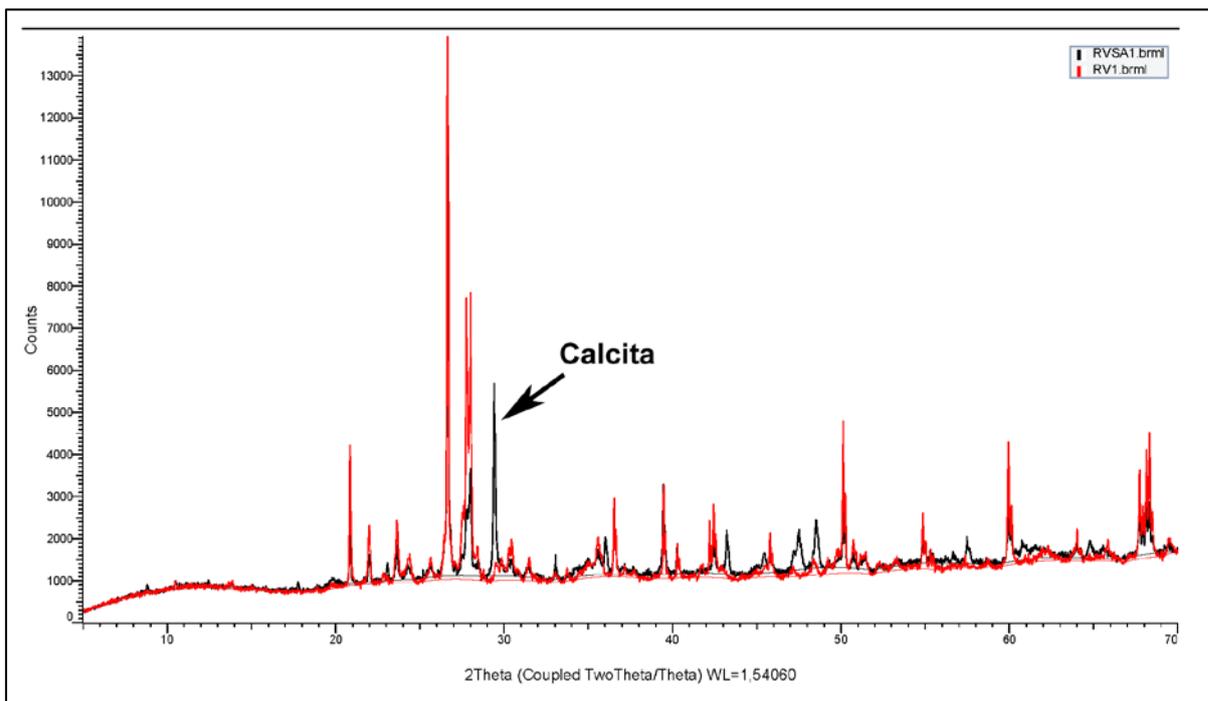


Figura 33.- Superposición difractogramas RV1 y RVSA1

La Figura 32, muestra el difractograma de la muestra RVSA1, la única que presenta la fase cristalina, y como se puede observar en la comparación entre la muestra RV1 y la RVSA1 (Figura 33), esta última contiene picos característicos de la fase cristalina Calcita.

A la vista de la diferencia, en cuanto a la estructura cristalina se refiere, entre la muestra RVSal y el resto de muestras de sedimentos, se llega a la decisión de que esta muestra es lo suficientemente diferente como para no ser considerada en posteriores análisis. Esta decisión se toma con el fin de evitar posibles desviaciones en la interpretación de los resultados.

4.2.- Contenidos totales

Los contenidos totales de metales de los sedimentos representan la cantidad total de metales presentes en los sedimentos. Mediante la técnica de fluorescencia de rayos X se pueden conocer estos contenidos.

La Tabla 14 muestra los valores de los contenidos totales, en mg/kg, obtenidos mediante la técnica de FRX.

Tabla 14. Contenidos totales (mg/kg)

Muestra	Elemento					
	Cr	Ni	Cu	Zn	As	Pb
RV1	20	20	22	63	22	19
RV2	19	19	22	66	18	20
RV3	4	8	6	17	26	33
RV4	14	14	8	32	28	27
RV4A	21	19	11	42	31	27
RV6	36	38	26	82	29	26
RV7	38	32	17	66	31	27
RV8	25	20	10	33	26	32
RV9	23	21	10	35	28	34
RV10	57	50	35	107	24	26

4.2.1.- Análisis estadístico univariante

La Tabla 15 muestra un resumen de los parámetros estadísticos más habituales de los contenidos totales de las muestras de sedimentos analizadas. Por su parte, la Figura 34 muestra el gráfico de caja y bigotes (box-plot) de los contenidos totales.

En el gráfico se observa que el Zn aparece a niveles casi dos órdenes de magnitud más grandes que el resto de elementos. Además, todos los elementos, excepto Zn presentan distribuciones sesgadas. En el caso de Cr, Ni y Cu muestran colas hacia valores elevados y valores del sesgo positivos, y en el caso de As y Pb presentan colas hacia valores más bajos y sesgos negativos, ya que su media es menor que su mediana.

Tabla 15. Resumen de parámetros estadísticos univariantes

Estadístico	Elemento					
	Cr	Ni	Cu	Zn	As	Pb
Media	25,70	24,10	16,70	54,30	26,30	27,10
s	14,73	12,40	9,37	27,41	4,08	5,00
s_{media}	4,66	3,92	2,96	8,67	1,29	1,58
Varianza	216,90	153,66	87,79	751,12	16,68	24,99
Mínimo	4,00	8,00	6,00	17,00	18,00	19,00
Máximo	57,00	50,00	35,00	107,00	31,00	34,00
Rango	53,00	42,00	29,00	90,00	13,00	15,00
Q1	17,75	17,75	9,50	32,75	23,50	24,50
Mediana	22,00	20,00	14,00	52,50	27,00	27,00
Q3	36,50	33,50	23,00	70,00	29,50	32,25
Sesgo	0,92	1,09	0,77	0,61	-0,87	-0,27
Curtosis	1,40	0,94	-0,23	-0,12	0,50	-0,53

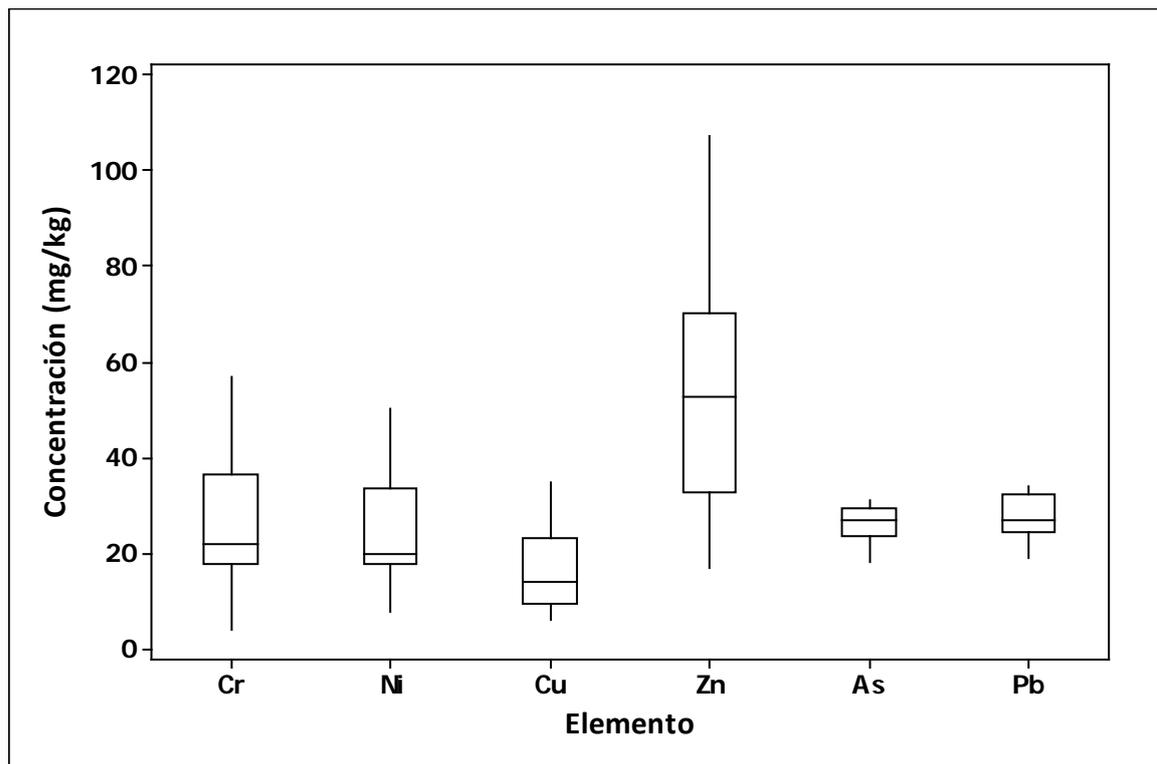


Figura 34.- Gráfico de caja y bigotes (boxplots) de los contenidos totales)

4.2.2.- Análisis en Componentes Principales

Como ya se indicó en 1.4.1, el Análisis en Componentes Principales (A.C.P.) permite concentrar la información de una tabla de datos, en la que se presentan varias variables (contenidos totales de los diferentes elementos) medidas sobre objetos diferentes (muestras de sedimentos). Eso permite obtener, unas nuevas variables (factores o componentes principales), cuya representación gráfica permite obtener información no disponible a primera vista. El primer paso (aunque transparente al usuario en los paquetes estadísticos habituales) es la construcción de la matriz de correlación de las variables, que en nuestro caso aparece en la Tabla 16, con los valores significativos en negrita.

Tabla 16. Matriz de correlación de los contenidos totales

	Cr	Ni	Cu	Zn	As	Pb
Cr	1,000 ----					
Ni	0,981 <i>0,000</i>	1,000 ----				
Cu	0,797 <i>0,006</i>	0,856 <i>0,002</i>	1,000 ----			
Zn	0,866 <i>0,001</i>	0,910 <i>0,000</i>	0,982 <i>0,000</i>	1,000 ----		
As	0,100 <i>0,784</i>	0,076 <i>0,834</i>	-0,378 <i>0,282</i>	-0,235 <i>0,513</i>	1,000 ----	
Pb	-0,153 <i>0,672</i>	-0,197 <i>0,585</i>	-0,597 <i>0,068</i>	-0,566 <i>0,088</i>	0,548 <i>0,101</i>	1,000 ----

En cursiva aparecen los valores de p a posterior con un $\alpha = 0,05$

El valor de $r_{\text{crítico}}$ con $\alpha = 0,05$ y $10-2 = 8$ g.d.l. es 0,632. El valor de p *a posterior* nos dice la fuerza con la que se mantiene H_0 de que $r = 0$ (no hay correlación). Un valor de p *a posteriori* menor de 0,05 indica que la correlación es significativa, y tanto más cuanto más pequeño sea p. En la Tabla 16 se observa que casi la mitad de las correlaciones son significativas (6 de 15), todas ellas positivas. Las no significativas, incluyen al As y al Pb, por lo que son los elementos menos correlacionados con el resto.

El siguiente paso es la extracción de los valores propios, λ_i , de la matriz de correlación. El interés radica en que a partir de ellos se conoce la cantidad de varianza o información que explicará cada uno de las nuevas variables o factores. Seguidamente, se construye la matriz de cargas (loadings), que son los coeficientes que toman los factores para cada una de las variables. La Tabla 17 muestra los valores de las cargas de los contenidos totales. Se observa que el primer factor y el segundo son los significativos al tener un valor propio mayor de 1. Estos dos factores de forma conjunta explican un 92,19% de la varianza.

Tabla 17.- Cargas (loadings) de los contenidos totales

Elemento	Factor o componente					
	1	2	3	4	5	6
Cr	0,885	-0,427	0,087	0,165	0,011	0,012
Ni	0,918	-0,389	0,064	-0,019	-0,001	-0,031
Cu	0,982	0,131	0,050	-0,123	0,034	0,011
Zn	0,996	0,006	-0,047	-0,052	-0,045	0,012
As	-0,253	-0,863	-0,435	-0,042	0,005	0,005
Pb	-0,545	-0,701	0,455	-0,061	-0,006	0,006
Valor propio	3,944	1,5877	0,4126	0,051	0,0034	0,0014
% Varianza	65,73	26,46	6,88	0,85	0,06	0,02
%Var.acum.	65,73	92,19	99,07	99,92	99,98	100,00

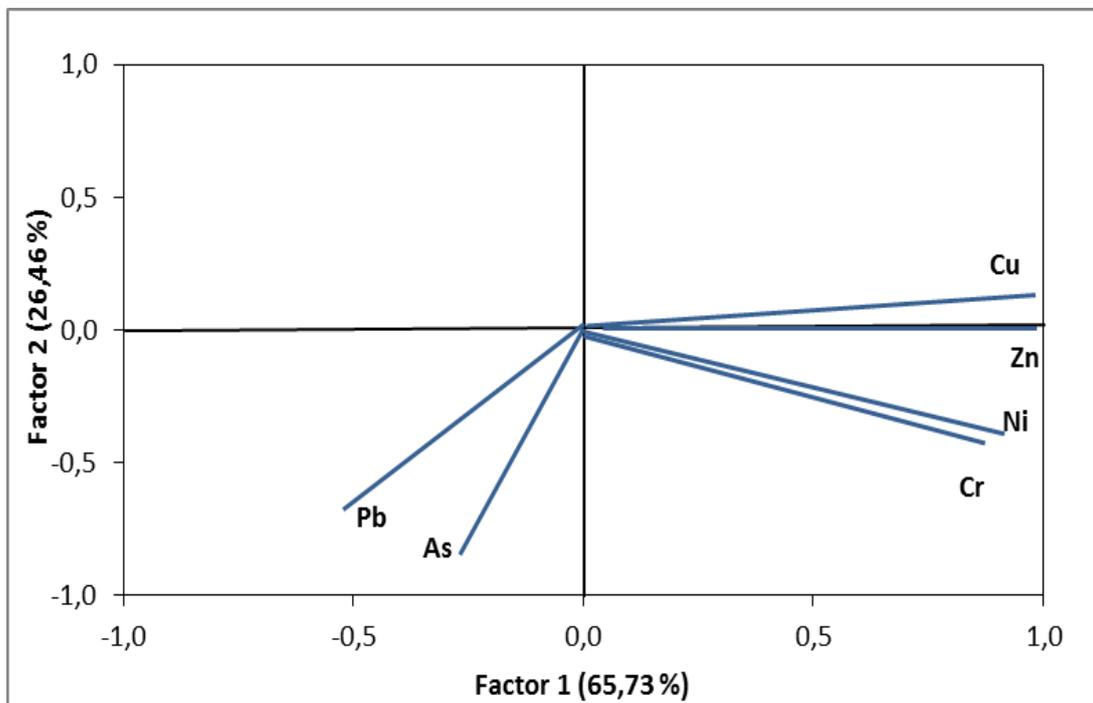


Figura 35.- Gráfico de cargas de contenidos totales

En dicha tabla aparecen en negrilla los valores máximos de los coeficientes para cada elemento analizado. Se observa que casi todos ellos, a excepción del As y el Pb, aparecen concentrados en el primer factor, mientras que el As y el Pb lo están en el segundo. La Figura 35 es la representación gráfica de las cargas de los dos primeros factores, visualizándose un 92,19 % de las relaciones entre los elementos analizados. En ella se observa que el Pb y el As tienen un comportamiento diferente del resto de los elementos estudiados., que aparecen todos concentrados en la misma zona del mismo gráfico.

A continuación se construyen las nuevas variables para cada una de las muestras, lo que da lugar a la llamada matriz de puntuaciones (scores), que se muestra en la Tabla 18. La

representación gráfica de los dos primeros componentes (Figura 36), explica un 92,19 % de la información presente en la Tabla 14. Como se puede observar en esta figura, se distinguen dos agrupaciones de muestras, las que aparecen en la zona derecha del gráfico, RV1, RV2, RV6, RV7 y RV10, y las que aparecen en la zona izquierda, RV3, RV4, RV4A, RV8 y RV9. De esta forma, las muestras pertenecientes a cada uno de estos grupos tendrán contenidos totales similares entre sí y diferentes a las de la agrupación contraria.

Tabla 18.- Puntuaciones (scores) de los contenidos totales

Muestra	Factor o componente					
	1	2	3	4	5	6
RV1	0,349	1,521	-0,780	0,001	1,756	0,237
RV2	0,378	2,004	0,434	0,273	-1,616	0,061
RV3	-1,419	0,135	0,883	-1,498	-0,135	0,902
RV4	-0,829	0,117	-0,775	0,484	-0,413	-1,608
RV4A	-0,503	-0,482	-1,388	0,116	0,457	1,458
RV6	0,908	-0,640	-0,613	-1,866	0,005	-1,388
RV7	0,380	-0,994	-1,004	1,023	-1,199	0,519
RV8	-0,593	-0,361	1,100	1,372	1,133	-0,919
RV9	-0,673	-0,787	1,001	-0,060	-0,297	0,142
RV10	2,002	-0,513	1,141	0,154	0,309	0,595
Valor propio	3,944	1,5877	0,4126	0,051	0,0034	0,0014
% Varianza	65,73	26,46	6,88	0,85	0,06	0,02
%Var.acum.	65,73	92,19	99,07	99,92	99,98	100,00

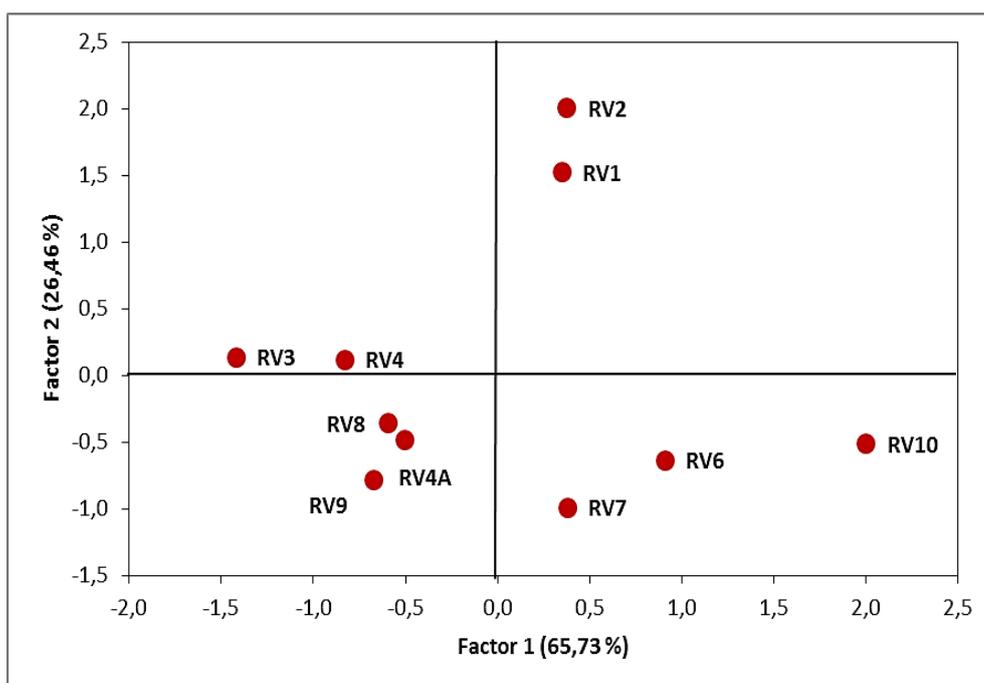


Figura 36.- Gráfico de puntuaciones de contenidos totales

Una información más completa de las relaciones entre muestras y metales la proporciona el denominado gráfico bivariado (Figura 37), en el que se representan, de manera conjunta y en un mismo espacio abstracto, las cargas de variables (metales analizados) y las puntuaciones de las muestras (sedimentos). La interpretación de este gráfico se realiza de forma idéntica que en los dos casos anteriores. Así, las muestras que aparezcan en la misma zona del espacio abstracto que los elementos analizados, tendrán en general valores elevados en esos elementos. No hay que perder de vista que la mayor parte de la información (65,73%) corresponde al Factor 1, por lo que lo más significativo es la separación a lo largo del eje de abscisas, es decir, que las muestras RV1, RV2, RV6, RV7 y RV10, situadas a la derecha de dicho eje, son las más cargadas en los elementos Cu, Zn, Ni y Cr; mientras que las muestras situadas a la izquierda RV3, RV4, RV4A, RV8 y RV9, están más cargadas en Pb y As. Por su parte, en el eje de ordenadas, donde se representa el Factor 2 (26,46%) permite diferenciar que las muestras RV1 y RV2 son las que contienen niveles más bajos de los elementos estudiados, debido a que se encuentran en una zona más alejada del gráfico.

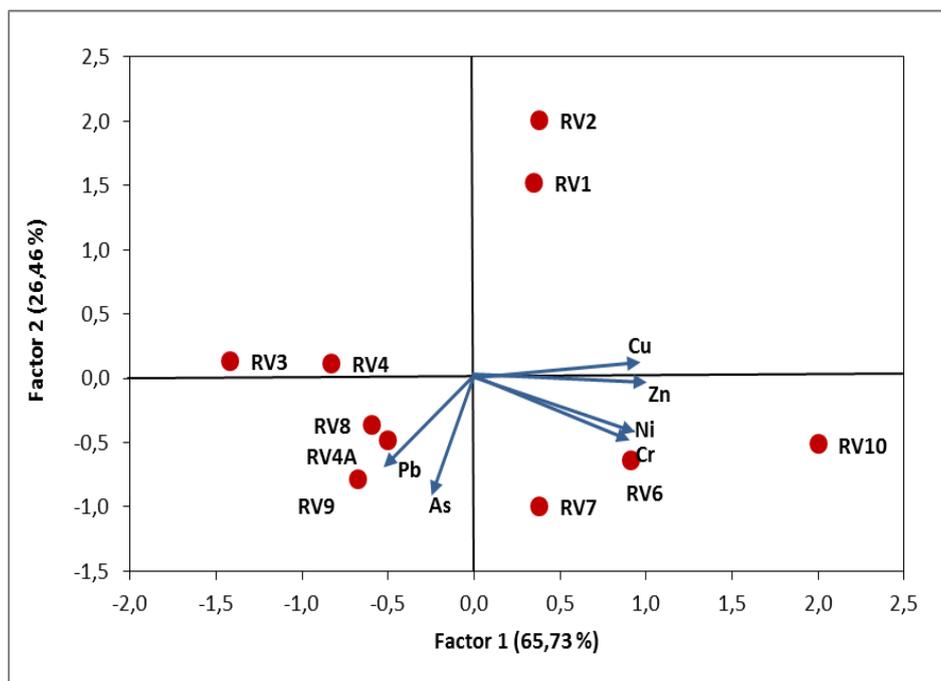


Figura 37.- Gráfico bivariado de contenidos totales

Todas estas conclusiones deben ser matizadas por el hecho de que el modelo de A.C.P. con dos factores que hemos estado describiendo deja sin explicar un 7,81% de la información de la Tabla 14.

La rotación Varimax de los factores que, en teoría permite "limpiarlos" y permite obtener factores más puros, no aporta mejora alguna a la interpretación, por lo que sus resultados no se muestran en la presente memoria.

4.2.3.- Análisis de Conglomerados

Al contrario que en el A.C.P., los métodos de Análisis de Conglomerados (A.C.) no tratan de buscar un modelo matemático para concentrar la información, sino que simplemente tratan de presentarla en forma de dendrograma, o diagrama en forma de árbol, en el que las variables (metales analizados) o los objetos (muestras de sedimentos) aparecen situados en función de su similitud, siendo la interpretación rápida e intuitiva. El proceso se lleva a cabo por medio del adecuado paquete estadístico, debiéndose controlar entre otros parámetros, dos que resultan ser fundamentales: la magnitud utilizada para cuantificar la distancia (o similitud) entre objetos o variables y el método de unión (linkage) utilizado para construir el dendrograma.

En el caso de este trabajo, se ha utilizado como distancia entre dos elementos químicos i y j el valor $d_{ij} = 1 - r_{ij}$, siendo r_{ij} el coeficiente de correlación entre i y j , lo que autoescala automáticamente las variables a media cero y varianza unidad. Para construir el dendrograma se ha preferido el método de Ward, que origina los mejores resultados visuales (Smolinski et al, 2002), ya que minimiza la separación entre variables que se parecen mucho, a la vez que maximiza las diferencias entre las que se parecen poco. La Figura 38 muestra el dendrograma de las variables de los contenidos totales.

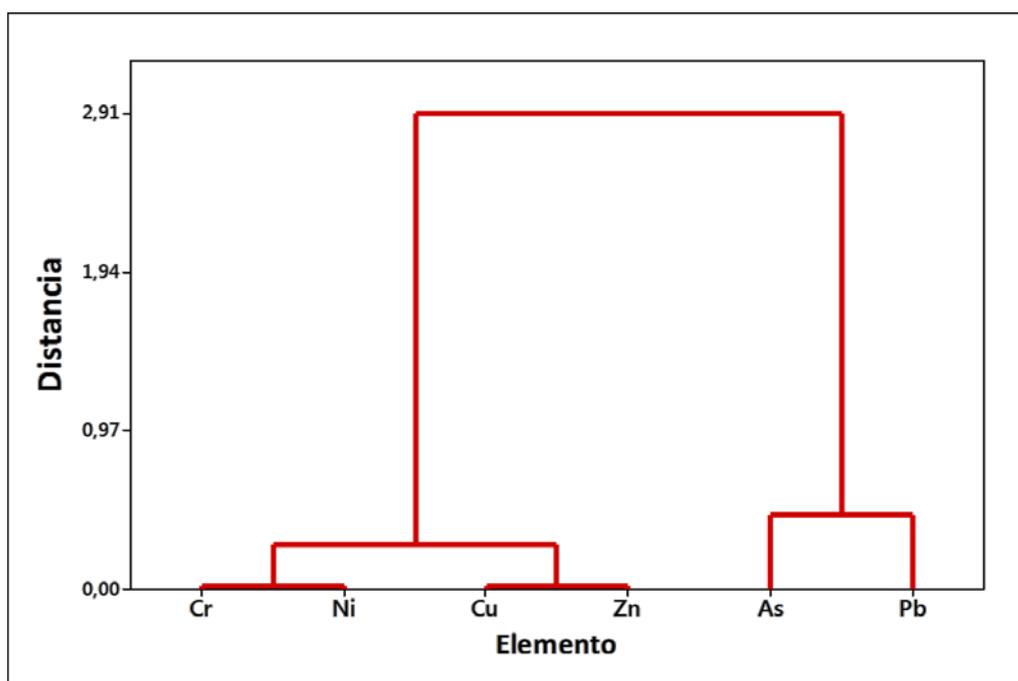


Figura 38.- Dendrograma de variables de contenidos totales

De la observación de dicha Figura, se confirma el comportamiento diferencial del As y el Pb, ya detectado en el gráfico de cargas del A.C.P. Se aprecia además ahora, la existencia de dos subgrupos dentro del resto de elementos, uno formado por Cr y Ni y otro formado por Cu y Zn.

La Figura 39 presenta el dendrograma correspondiente a las muestras de sedimentos. En este caso, se ha cuantificado la similitud entre dos muestras A y B por medio de la distancia

euclídea y el procedimiento de construcción del árbol (linkage) ha sido también el método de Ward.

De la observación de dicha figura, se deduce la presencia de dos grandes conglomerados, uno formado por las muestras RV1, RV2, RV6, RV7 y RV10. El otro gran conglomerado está formado por las muestras RV3, RV4, RV4A, RV8 y RV9. Ambos conglomerados se subdividen a su vez en otros dos.

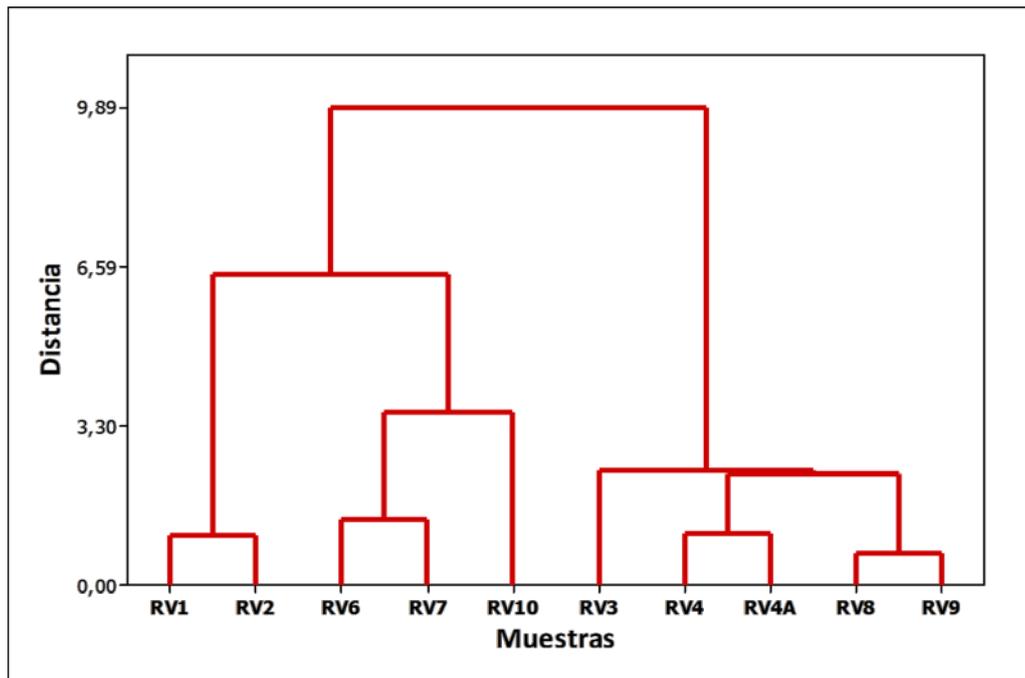


Figura 39.- Dendrograma de objetos de contenidos totales

La visualización conjunta de los dendrogramas correspondientes a las variables y a los sedimentos, puede hacerse por medio del método descrito por Smolinski (2002), que consiste en reordenar las filas y columnas de la matriz de datos, previamente autoescalada a media cero y varianza unidad, y aplicar un código de colores por medio de la instrucción `pcol` de MATLAB, generando así un *heat map* o mapa de temperatura de los datos. La Figura 40 presenta los resultados obtenidos.

En esta figura se localizan fácilmente las muestras con valores elevados de metales tóxicos (coloreadas de naranja a rojo oscuro), pudiéndose comprender inmediatamente el conglomerado formado por las muestras RV6, RV7 y RV10, ya que todas ellas son las que poseen valores relativos más grandes en contenidos totales de los elementos analizados. Por su parte, el conglomerado formado por RV1 y RV2 se explica por tener un contenido total bajo de Pb y As, y un contenido medio del resto de metales. El otro gran conglomerado, el formado por RV3, RV4, RV4A, RV8 y RV9, se explica por el bajo contenido total de Cr, Ni, Cu y Zn y un contenido medio de Pb y As.

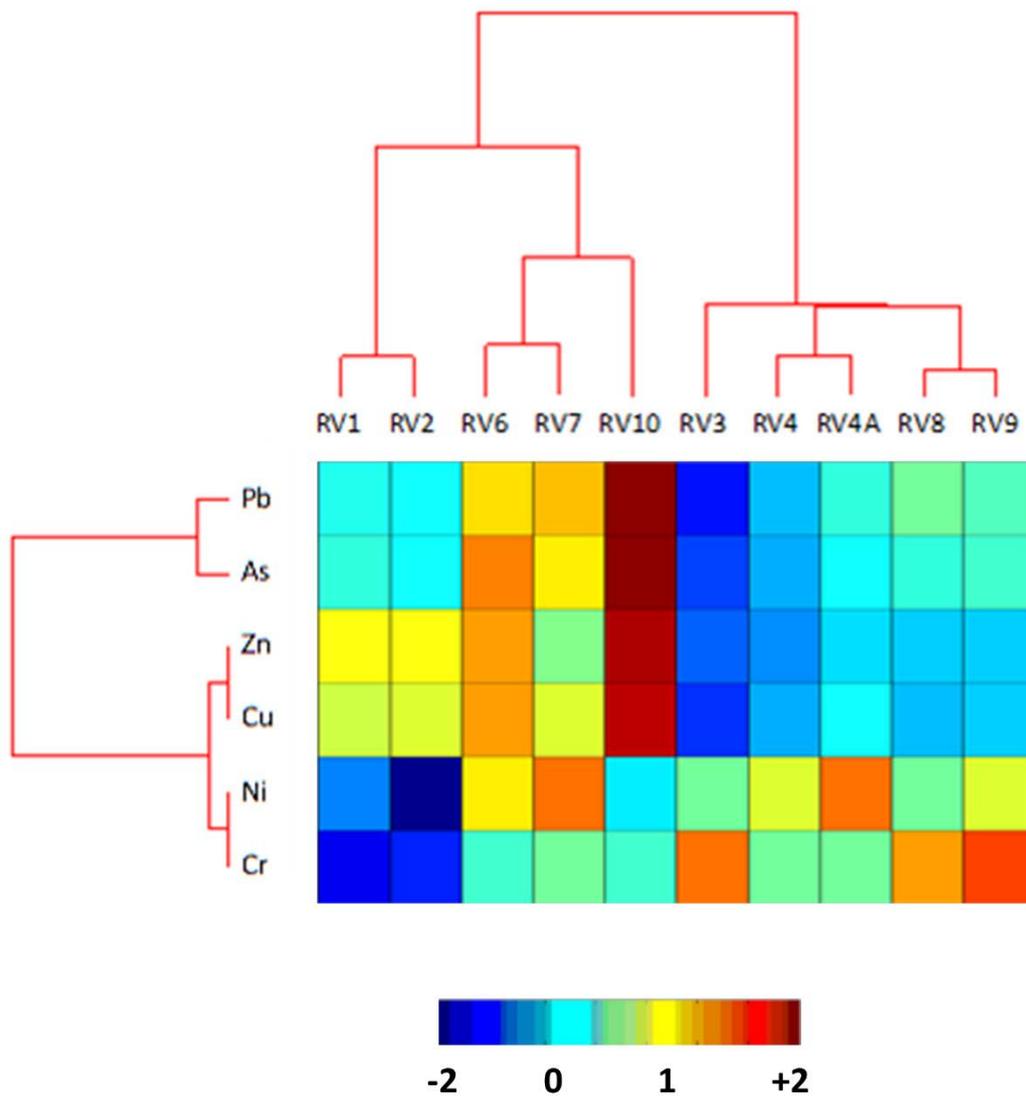


Figura 40.- Visualización conjunta de los dos dendrogramas de contenidos totales

En general, el A.C. confirma todas las conclusiones extraídas del A.C.P., lo que pone de manifiesto su complementariedad. Mientras el A.C.P. trata de buscar un modelo matemático basado en unos factores ortogonales entre sí (que no comparten información), concentrando la mayor cantidad de información (92,19%) de la tabla de datos original, el A.C. representa toda la información, a partir del parecido entre objetos o variables.

Eso permite visitar la Figura 37, que resumía el A.C.P., para incluir la información del A.C., tal como se muestra en la Figura 41, en la que se han agrupado las muestras que comparten características comunes en base a sus contenidos en metales totales. Así, en rojo aparecen las muestras con contenidos más altos y en verde las menos cargadas, mientras que el grupo en naranja presenta contenidos intermedios, relativamente elevados en Pb o As.

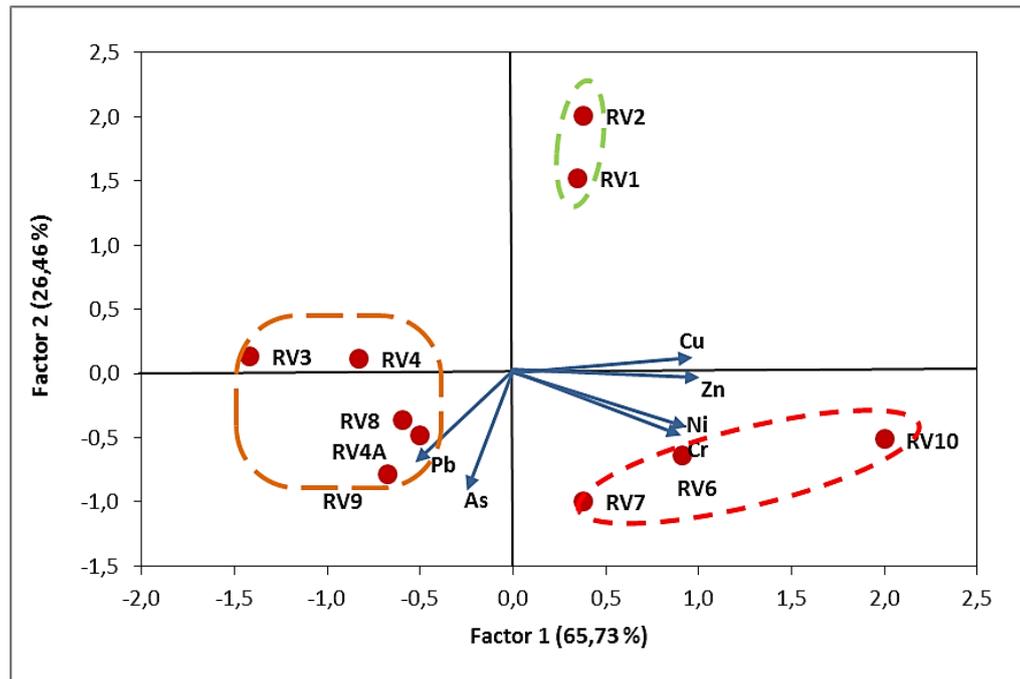


Figura 41.- Gráfico bivariado de contenidos totales

4.3.- Contenidos pseudototales

Los contenidos pseudototales representan la cantidad movilizable de metales tóxicos en una muestra sólida (suelo o sedimento), y son por tanto una indicación más precisa del riesgo que dichas muestras pueden suponer al medioambiente. La Tabla 19 muestra los valores medios de los contenidos pseudototales, en mg/kg, obtenidos al analizar dos réplicas de cada una de las muestras disponibles.

Tabla 19.- Contenidos pseudototales (mg/kg)

Muestra	Elemento						
	Cr	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Pb
RV1	6,05	0,59	2,38	21,93	2,88	< LD	4,50
RV2	4,05	< LD	1,29	5,68	3,83	< LD	0,80
RV3	1,31	1,21	1,08	10,08	0,65	< LD	1,59
RV4	5,03	3,18	3,92	7,09	1,56	0,26	1,28
RV4A	4,00	3,04	3,47	30,68	1,82	0,20	3,43
RV6	20,32	12,25	10,93	12,42	5,46	0,40	1,46
RV7	6,07	4,37	3,42	22,53	1,35	< LD	2,05
RV8	11,52	4,79	4,81	9,54	4,80	< LD	1,00
RV9	9,89	6,40	5,95	44,89	0,91	< LD	2,84
RV10	29,63	19,78	18,70	49,92	3,98	0,78	8,07

4.3.1.- Contenido medio movilizable

A partir de los resultados de la Tabla 19, se pueden calcular los valores de contenido pseudototal medio de cada uno de los elementos. Si se realiza lo mismo con los resultados de la Tabla 14 y se comparan ambos contenidos medios se puede obtener el porcentaje movilizable medio para cada metal. Estos valores son los que se muestran en la Tabla 20.

Tabla 20.- Comparación contenidos total y pseudototal medios

Contenido metales	Elemento					
	Cr	Ni	Cu	Zn	As	Pb
Total	27,00	24,64	18,45	57,64	25,91	26,45
Pseudototal	10,38	5,13	5,94	21,59	3,43	2,84
% Movilizable	38,45	20,83	32,18	37,47	13,26	10,73

La información que aparece en la tabla anterior puede visualizarse en forma de diagrama de barras en la Figura 42. En este gráfico se representa el contenido movilizable medio o pseudototal comparándolo con el contenido total medio. Puede observarse como el porcentaje de contenido disponible o movilizable representa en la mayoría de los casos menos del 30% del contenido total de metales presentes en los sedimentos estudiados

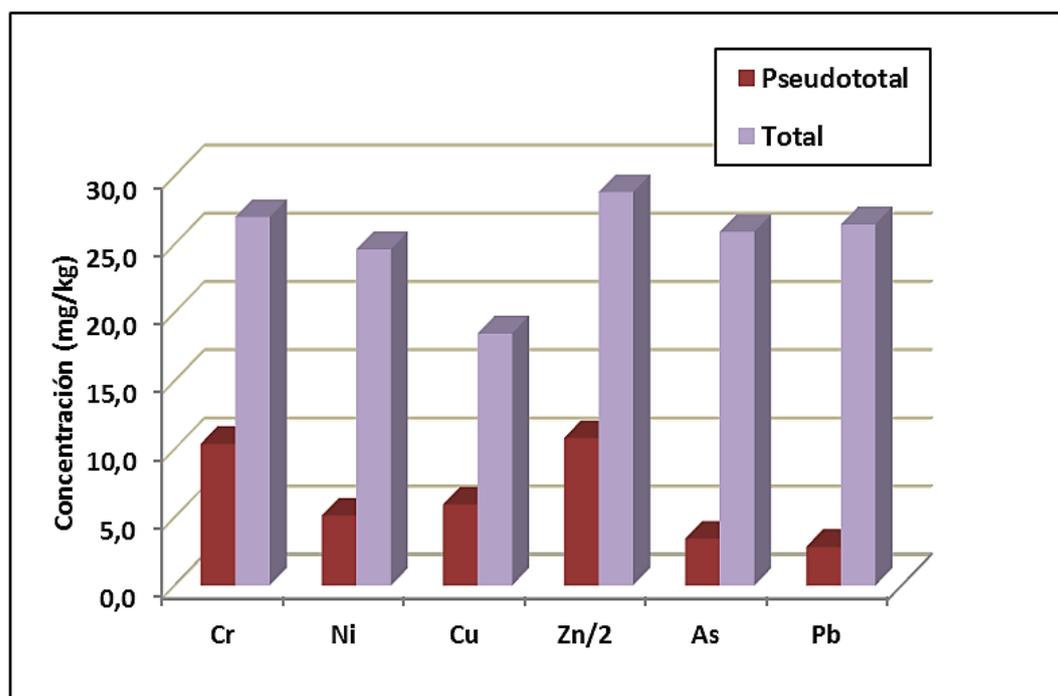


Figura 42.- Contenido pseudototal medio respecto contenido total medio

4.3.2.- Evaluación de la peligrosidad medioambiental

A la hora de evaluar la peligrosidad de las muestras analizadas, debería bastar con comparar sus valores con los correspondientes valores guía o SQG (Sediment Quality Guidelines). A pesar de la sencillez de la propuesta, lo cierto es que no existen criterios uniformes de consenso para tal fin. Mientras que tradicionalmente la peligrosidad se establecía comparando los valores encontrados con los niveles fondo del material examinado, recientemente se empezaron a tomar en consideración los efectos biológicos causados (Burton, 2002). No obstante, existen multitud de criterios, ninguno de ellos con el necesario consenso (Crane, 2003) y que se aplican en los diferentes países (CEDEX, 1994). Incluso en Europa, donde existe la Directiva Marco sobre el Agua (Water Framework Directive) es de obligado cumplimiento para los estados miembros, solo recientemente se ha empezado a considerar a los sedimentos como susceptibles de ser incorporados en la misma (Comisión Europea, 2012). En resumen, aunque la idea es muy atractiva y de fácil implementación, en la práctica no tiene validez alguna. La Tabla 21 muestra unos ejemplos característicos.

Tabla 21.- Algunos niveles guía para sedimentos (mg/kg)

Nivel guía	Elemento						
	Cr	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Pb
CEDEX Acción 1	200	100	100	500	80	1	120
CEDEX Acción 2	1000	400	400	3000	200	5	600
Effects Range Low (ERL)	80	30	70	120	33	5	35
Effects Range Medium (ERM)	145	50	390	270	85	9	110

CEDEX Acción 1 y 2 se refieren, respectivamente, a niveles de concentración que permiten el vertido libre al mar o que implican el vertido controlado (CEDEX 1993), mientras que ERL es el nivel por debajo del cual un sedimento origina raramente efectos perjudiciales y ERM es el nivel por encima del cual es muy probable que dichos efectos se produzcan (Burton, 2002). La disparidad evidente entre los dos tipos de criterios, proviene del hecho de que el CEDEX se refiera sedimentos portuarios. Véase Burton (2002) para más criterios de calidad.

En cualquier caso, los valores encontrados por nosotros están por muy por debajo de cualquiera de los criterios de calidad examinados, por lo que se puede decir que los sedimentos no ofrecen peligro medioambiental alguno.

4.3.3.- Análisis estadístico univariante

La Tabla 22 muestra un resumen de los parámetros estadísticos más habituales de los contenidos pseudototales. La Figura 43 muestra el gráfico box-plot de los contenidos pseudototales, permitiendo una mejor visualización de dichos parámetros.

Tabla 22.- Resumen de parámetros estadísticos univariantes

Muestra	Elemento						
	Cr	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Pb
Media	9,79	5,56	5,60	21,48	2,72	0,16	2,70
s	8,80	6,11	5,40	15,83	1,71	0,26	2,22
S _{media}	2,78	1,93	1,71	5,00	0,54	0,08	0,70
Varianza	77,37	37,37	29,13	250,46	2,92	0,07	4,93
Mínimo *	1,30	0,00	1,08	5,68	0,65	0,00	1,21
Máximo	29,63	19,78	18,70	49,92	5,46	0,78	8,07
Rango	28,32	19,78	17,62	44,24	4,811	0,78	7,27
Q1	4,04	1,05	2,11	8,93	1,24	0,00	1,21
Mediana	6,05	3,77	3,70	17,18	2,35	0,00	1,82
Q3	13,72	7,86	7,19	34,23	4,19	0,30	3,70
Sesgo	1,59	1,68	1,92	0,90	0,36	1,76	1,81
Curtosis	2,06	2,68	3,69	-0,47	-1,42	2,94	3,49

* Los valores < LD se han sustituido por 0,00 mg/kg

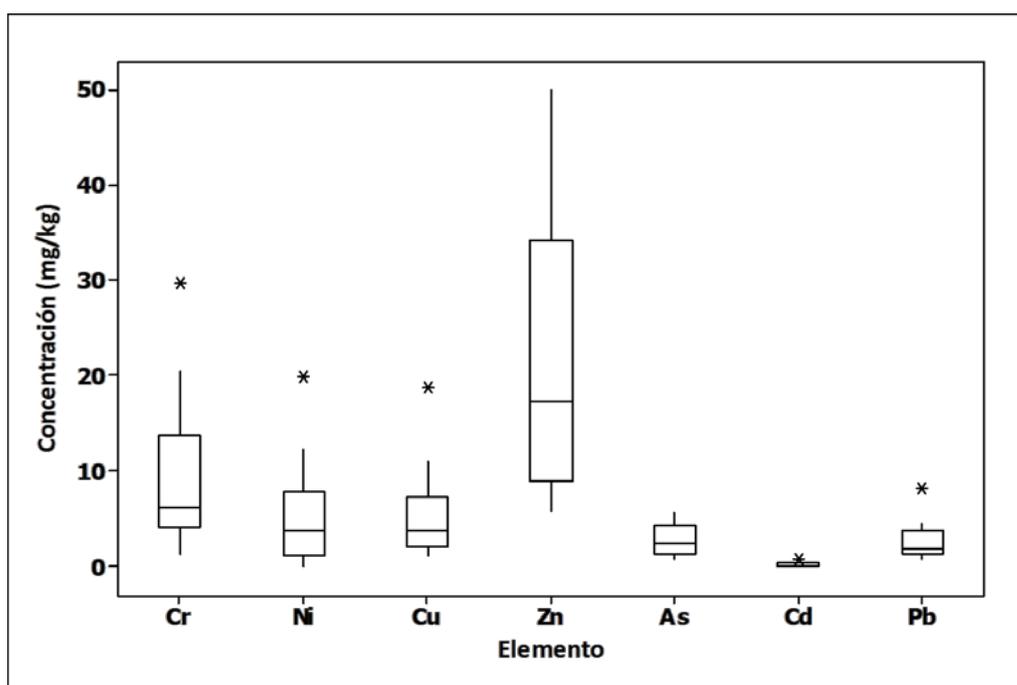


Figura 43.- Gráfico box-plot de los contenidos pseudototales

En el gráfico se observa que el Zn se encuentra a niveles un orden de magnitud más grande que el resto de los elementos. Todos los elementos presentan distribuciones sesgadas con colas hacia valores elevados, ya que tienen coeficientes de sesgo positivos y sus medias son mayores que las medianas. Además, se aprecia que la mayoría presentan valores anómalos, a excepción del Zn y el As.

4.3.4.- Análisis en Componentes Principales

En primer lugar, se realiza la matriz de correlación para las variables de los contenidos pseudototales, la cual aparece en la Tabla 23, con los valores significativos en negrita. Los valores < LD han sido sustituidos por 0,00.

Tabla 23.- Matriz de correlación de los contenidos pseudo-totales

	Cr	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Pb
Cr	1,000 ----						
Ni	0,969 <i>0,000</i>	1,000 ----					
Cu	0,979 <i>0,000</i>	0,992 <i>0,000</i>	1,000 ----				
Zn	0,517 <i>0,126</i>	0,595 <i>0,070</i>	0,601 <i>0,066</i>	1,000 ----			
As	0,619 <i>0,056</i>	0,446 <i>0,197</i>	0,480 <i>0,161</i>	-0,177 <i>0,625</i>	1,000 ----		
Cd	0,843 <i>0,002</i>	0,886 <i>0,001</i>	0,912 <i>0,000</i>	0,449 <i>0,193</i>	0,401 <i>0,250</i>	1,000 ----	
Pb	0,621 <i>0,055</i>	0,641 <i>0,046</i>	0,694 <i>0,026</i>	0,814 <i>0,004</i>	0,057 <i>0,875</i>	0,667 <i>0,035</i>	1,000 ----

En cursiva aparecen los valores de p a posteriori con un $\alpha = 0,05$

El valor de $r_{\text{crítico}}$ con $\alpha = 0,05$ y $10-2 = 9$ g.d.l. es 0,632. Los valores de la Tabla 23 que sean mayores que este $r_{\text{crítico}}$ indicarán correlaciones significativas. Además, lo serán cuanto menor y más pequeño de 0,05 sea el valor de p a posteriori. Observando la anterior Tabla se puede ver como un buen número de correlaciones (10 de 21) son significativas, y todas ellas positivas. De entre las no significativas, 5 incluyen al Zn y otras 5 incluyen al As, por lo que parecen ser los elementos menos correlacionados con el resto.

La Tabla 24 muestra la matriz de cargas de los contenidos pseudototales. Los dos primeros factores son significativos explicando entre ambos un 90,78% de la varianza. Los valores máximos de los coeficientes para cada factor aparecen señalados en negrilla. Todos los elementos tienen sus valores máximos en el factor 1, a excepción de Zn y As. La representación gráfica de los dos primeros factores se muestra en la Figura 44.

En dicho gráfico de cargas se observa como el As tiene un comportamiento diferente al resto, al aparecer separado de ellos. Todos los elementos aparecen concentrados en la misma zona del gráfico.

Tabla 24.- Tabla de cargas (loadings) de los contenidos pseudototales

Elemento	Factor o componente						
	1	2	3	4	5	6	7
Cr	0,962	0,222	-0,036	0,128	0,081	-0,032	-0,008
Ni	0,970	0,079	0,142	0,166	0,048	0,049	-0,001
Cu	0,989	0,081	0,089	0,076	0,026	-0,022	0,011
Zn	0,669	-0,675	-0,204	0,203	-0,121	-0,002	-0,001
As	0,456	0,815	-0,347	-0,051	-0,068	0,010	0,001
Cd	0,909	0,091	0,307	-0,242	-0,116	-0,005	-0,003
Pb	0,783	-0,476	-0,225	-0,322	0,084	0,008	0,000
Valor propio	4,94	1,42	0,3363	0,2555	0,0495	0,0040	0,0002
% Varianza	70,54	20,23	4,80	3,65	0,71	0,06	0,00
% Var. acum.	70,54	90,78	95,58	99,23	99,94	100,00	100,00

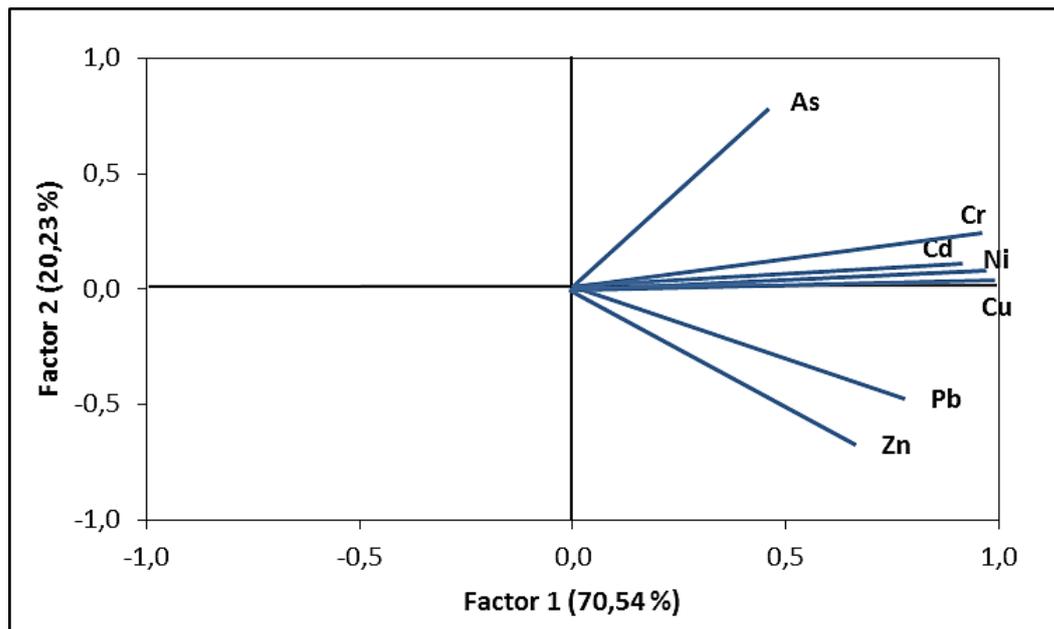


Figura 44.- Gráfico de cargas de los contenidos pseudototales

A continuación, se construye la matriz de las puntuaciones que aparecen en la Tabla 25, y en la Figura 45 se representan los dos primeros factores (90,78% de la varianza).

Tabla 25.- Tabla de puntuaciones (loadings) de los contenidos pseudototales

Elemento	Factor o componente						
	1	2	3	4	5	6	7
RV1	-0,337	-0,419	-1,686	-1,336	0,849	-0,707	-1,342
RV2	-0,793	0,896	-0,589	-0,400	-0,807	-0,433	0,795
RV3	-0,900	-0,466	1,028	-0,297	1,322	0,776	0,419
RV4	-0,463	0,157	1,830	-0,749	-0,235	-1,574	0,084
RV4A	-0,184	-0,833	-0,123	-0,672	-2,117	1,294	0,030
RV6	0,796	1,746	0,502	0,665	-0,324	0,338	-1,753
RV7	-0,429	-0,537	0,268	0,723	0,813	1,364	-0,493
RV8	-0,243	1,291	-0,969	0,694	0,478	0,175	1,523
RV9	0,039	-1,364	-0,345	2,021	-0,407	-1,246	-0,121
RV10	2,514	-0,471	0,083	-0,650	0,428	0,013	0,858
Valor propio	4,94	1,42	0,3363	0,2555	0,0495	0,0040	0,0002
% Varianza	70,54	20,23	4,80	3,65	0,71	0,06	0,00
% Var. acum.	70,54	90,78	95,58	99,23	99,94	100,00	100,00

Como se puede observar en la Figura 45, casi todas las muestras se encuentran en la misma región del gráfico, a excepción de las muestras RV6, RV9 y RV10 que se encuentran en la zona derecha del mismo. Esto indica un comportamiento diferencial de estas muestras en cuanto a los contenidos pseudototales.

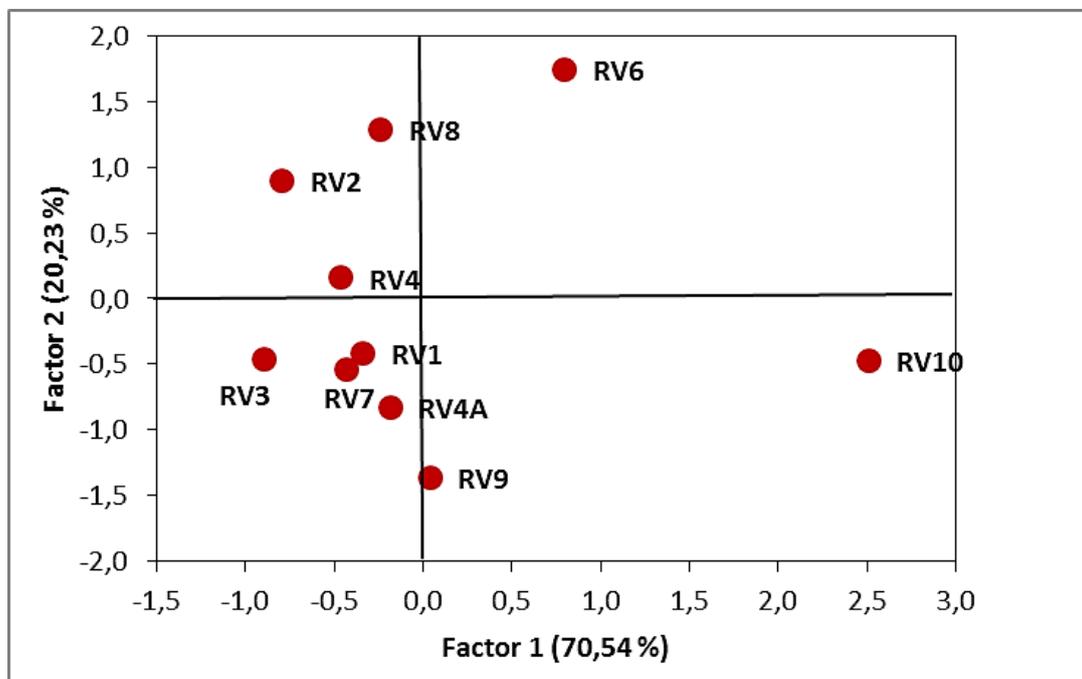


Figura 45.- Gráfico de puntuaciones de los contenidos pseudototales

La Figura 46 muestra el gráfico bivariado, donde se observa como las muestras anteriormente indicadas como diferentes, RV6, RV9 y RV10, están orientadas en la misma zona del gráfico que los elementos, por lo que dichas muestras tendrán un alto contenido pseudototal en estos metales. Las muestras que aparecen en la región izquierda del gráfico presentan bajos contenidos en elementos. Observando el eje de las ordenadas se puede diferenciar que la muestra RV6 tiene un alto contenido en As al estar orientada en la misma dirección que este elemento.

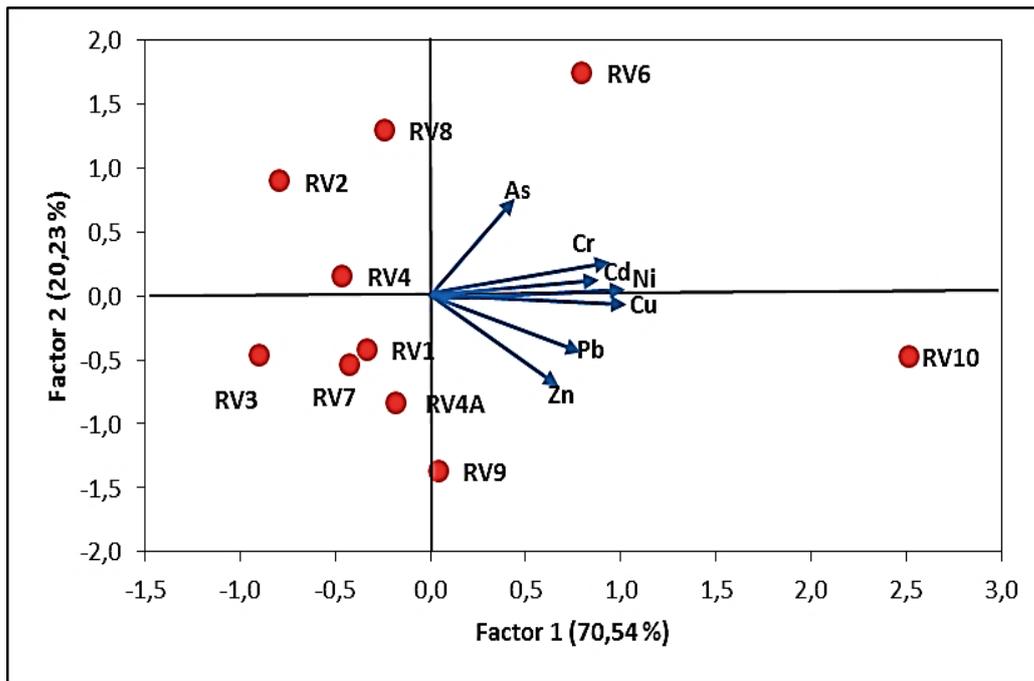


Figura 46.- Gráfico bivariado de los contenidos pseudototales

Tampoco en este caso la rotación Varimax permite mejorar la interpretación, por lo que sus resultados no se muestran en la memoria.

4.3.5.- Análisis de Conglomerados

La Figura 47 presenta el dendrograma correspondiente a los elementos analizados, utilizando para cuantificar la distancia entre dos elementos químicos y construyendo el Dendrograma con el método de Ward. De la observación de dicha figura, se observan dos grandes conglomerados, el formado por Zn y Pb, y otro por el resto de elementos. En este segundo conglomerado se confirma el comportamiento diferencial del As ya detectado en el gráfico de cargas del A.C.P. (Figura 44).

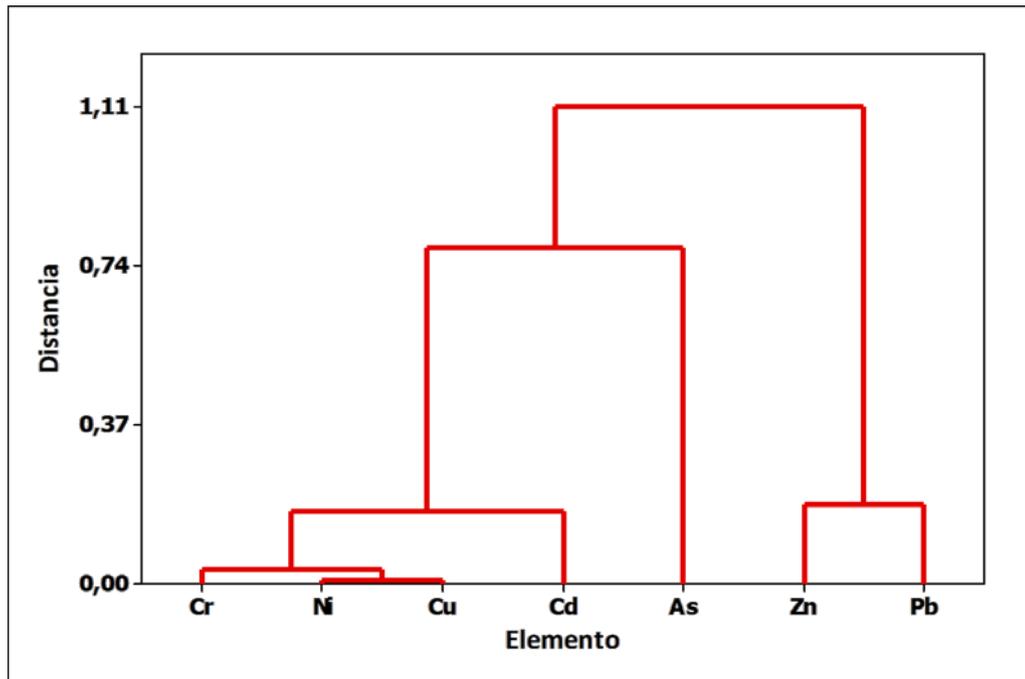


Figura 47.- Dendrograma de variables de los contenidos pseudototales

La Figura 48 presenta el Dendrograma de las muestras de sedimentos (distancia euclídea de variables autoescaladas y método de Ward). Se puede observar el comportamiento diferencial de la muestra RV10 y se distinguen dos grandes conglomerados, el formado por las muestras RV2, RV6 y RV8, y el formado por el resto de las muestras.

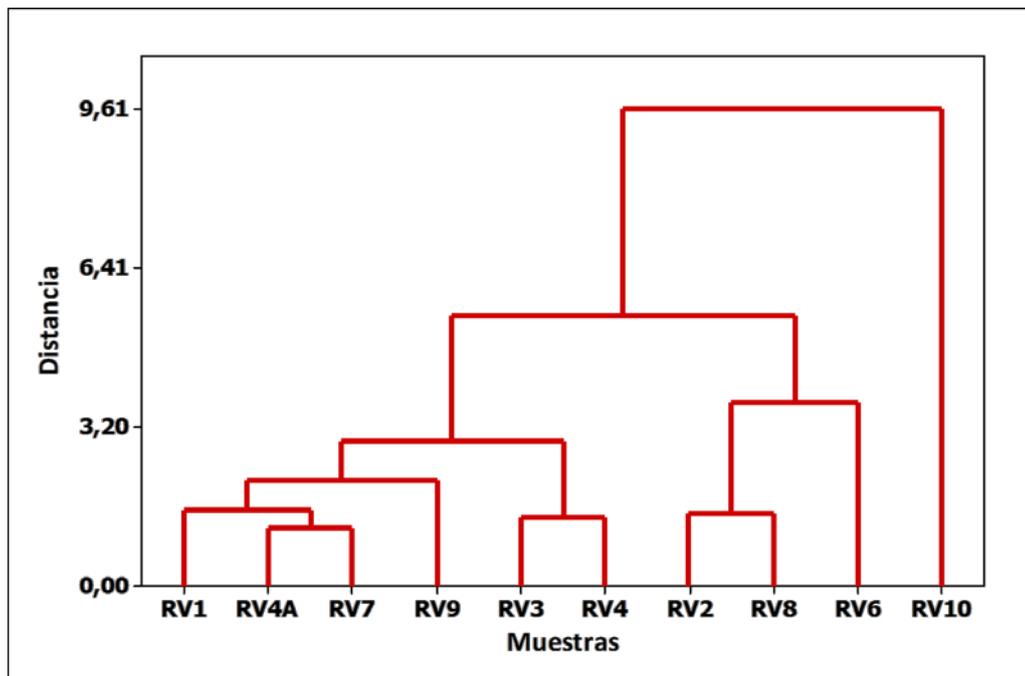


Figura 48.- Dendrograma de objetos de los contenidos pseudototales

La visualización conjunta de los dendrogramas de variables y sedimentos se lleva a cabo mediante el *heat map* (Figura 49), tal y como se realizó con los contenidos totales. Se observa como la muestra RV10 es la que tiene un alto contenido pseudototal en metales tóxicos, explicando su comportamiento diferencial y aislado del resto de muestras. El conglomerado formado por las muestras RV2, RV8 y RV6 se explica por tener un contenido pseudototal relativamente alto de Cr, Ni y Cu, sobre todo la RV6. El resto de muestras tiene un contenido pseudototal medio-bajo en metales tóxicos, destacando el conglomerado formado por RV1, RV4A y RV7 por tener un alto contenido en Pb y Zn.

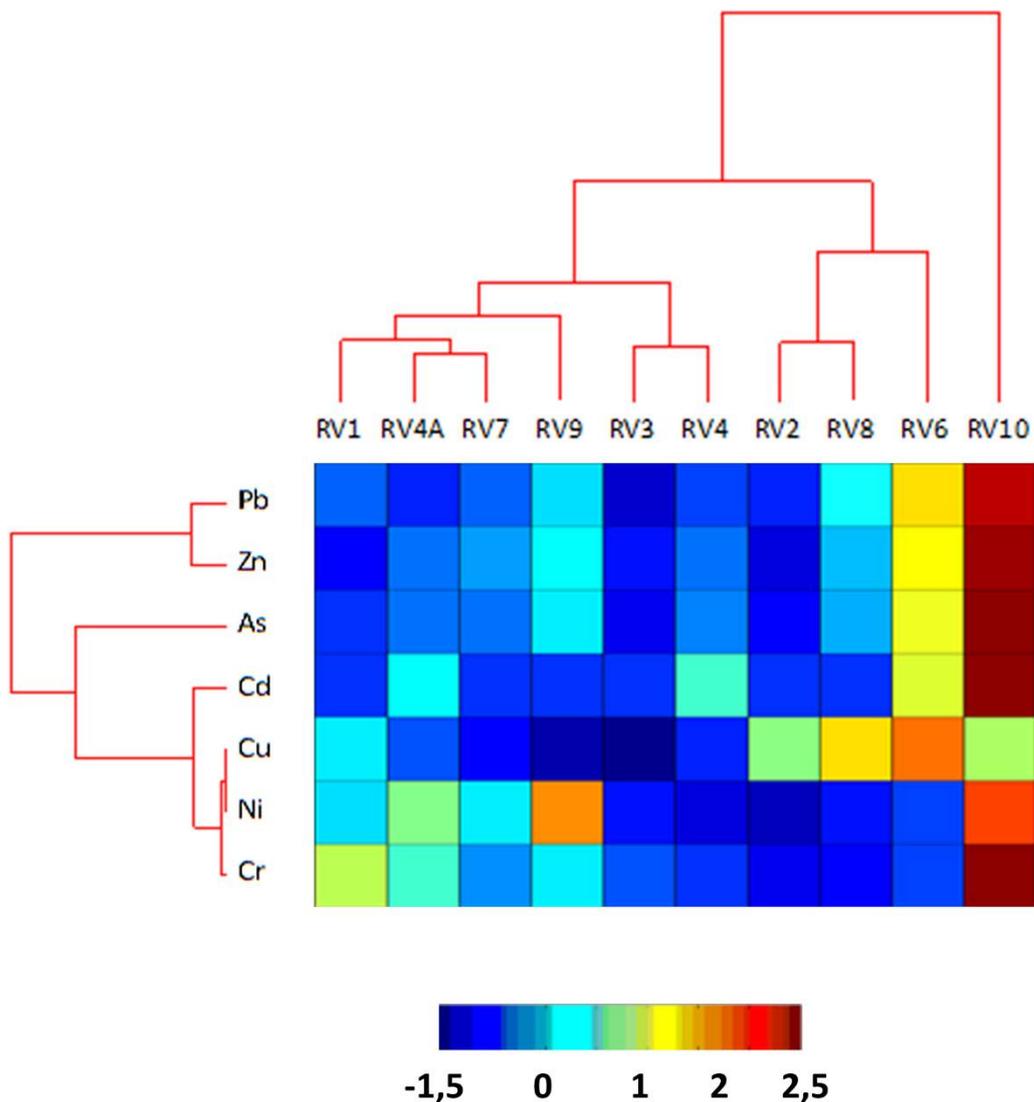


Figura 49.- Visualización conjunta de los dos dendrogramas de contenidos pseudo-totales

De esta forma, se puede revisar la Figura46 e incluir la información aportada por el A.C., tal y como se muestra en la Figura 50. Así, en rojo aparece la muestra con el contenido pseudototal de metales más alto, la RV10. En naranja se observan los dos conglomerados con

contenidos pseudototales medios, mientras que en verde aparece el conglomerado formado por las muestras RV3 y RV4, que son las muestras con contenidos más bajos en metales pseudototales.

Conociendo previamente los niveles de elementos considerados como peligrosos para el medio ambiente, se puede concluir que las muestras estudiadas no presentan riesgo medioambiental, ya que sus contenidos pseudototales se sitúan por debajo de dichos niveles.

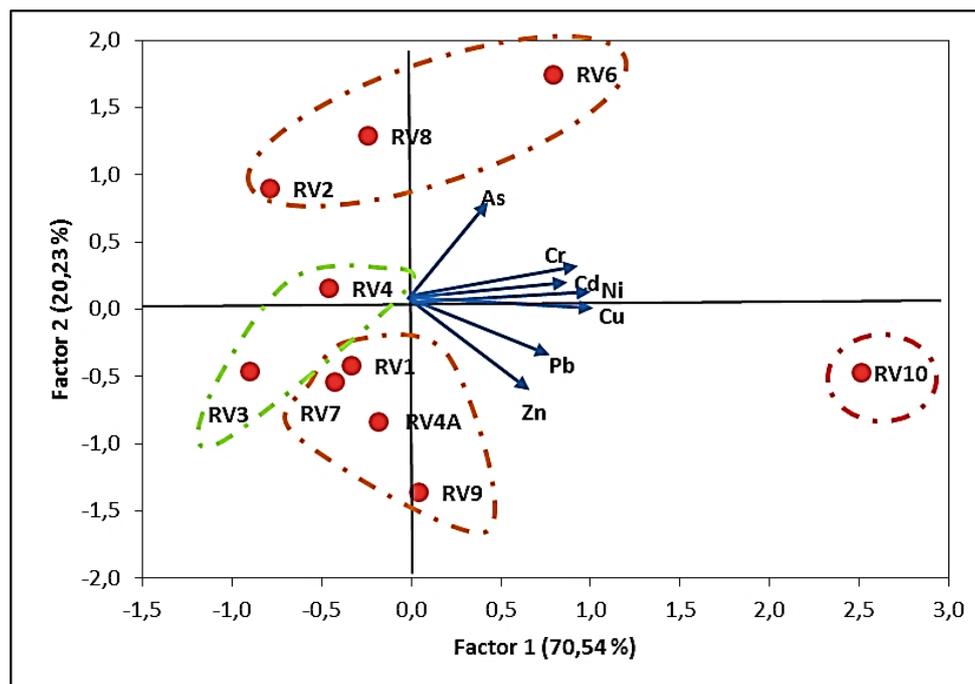


Figura 50.- Gráfico bivariado de contenidos pseudototales

4.4.- Fraccionamiento químico

El fraccionamiento químico B.C.R. permite dividir los contenidos pseudototales en 4 fracciones, 1, 2, 3 y 4 (Residual), de disponibilidad decreciente. La Tabla 26 muestra los resultados medios obtenidos, en mg/kg, al analizar 2 réplicas de las muestras disponibles. Cabe resaltar que la Fracción 4 (Residual) se obtuvo por diferencia de la suma de las Fracciones 1, 2 y 3, del contenido pseudototal (Tabla 19).

Tabla 26.- Fraccionamiento químico B.C.R. (mg/kg)

Muestra	Fracción	Elemento						
		Cr	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Pb
RV1	1	< LD	0,10	< LD	3,00	0,34	< LD	< LD
RV2	1	< LD	0,10	< LD	0,92	0,36	< LD	< LD
RV3	1	0,02	< LD	< LD	2,50	< LD	< LD	0,28
RV4	1	0,34	0,09	< LD	3,27	0,22	< LD	< LD
RV4A	1	< LD	0,04	< LD	0,57	0,20	< LD	< LD
RV6	1	< LD	0,46	0,01	4,49	0,61	< LD	< LD
RV7	1	< LD	0,06	0,18	1,18	0,12	< LD	< LD
RV8	1	< LD	0,14	0,27	1,72	0,50	< LD	< LD
RV9	1	< LD	0,16	0,36	1,80	< LD	< LD	< LD
RV10	1	< LD	1,15	1,42	3,43	0,22	< LD	< LD
RV1	2	0,56	0,16	0,58	2,51	0,43	0,06	1,71
RV2	2	0,36	0,18	0,64	3,45	0,42	0,04	1,58
RV3	2	0,84	0,08	0,23	1,38	0,19	0,06	2,99
RV4	2	0,23	0,17	0,49	2,79	0,32	0,04	0,52
RV4A	2	0,55	0,14	0,29	0,46	0,30	0,05	1,02
RV6	2	0,89	0,42	1,26	3,88	2,78	0,08	3,38
RV7	2	0,26	0,17	0,37	0,39	0,47	0,05	0,19
RV8	2	0,33	0,29	0,73	1,74	0,92	0,05	0,78
RV9	2	0,11	0,62	0,49	0,78	0,17	0,05	< LD
RV10	2	0,71	1,45	1,86	2,43	0,68	0,06	0,53
RV1	3	< LD	0,11	1,38	2,20	0,24	< LD	< LD
RV2	3	< LD	0,49	0,61	1,94	0,33	< LD	< LD
RV3	3	0,77	0,01	0,12	1,46	< LD	< LD	0,21
RV4	3	< LD	0,32	0,64	1,85	0,05	< LD	< LD
RV4A	3	0,43	0,37	0,33	2,15	< LD	< LD	2,36
RV6	3	< LD	0,68	1,13	2,87	0,82	< LD	< LD
RV7	3	< LD	0,34	0,53	1,47	0,05	< LD	< LD
RV8	3	0,09	0,82	0,99	4,78	0,15	< LD	< LD
RV9	3	< LD	1,54	0,65	2,97	< LD	< LD	< LD
RV10	3	< LD	2,02	9,87	5,39	0,15	< LD	< LD
RV1	4	5,49	0,22	0,42	14,22	1,88	< LD	2,79
RV2	4	3,70	< LD	0,04	< LD	2,72	< LD	< LD
RV3	4	< LD	1,12	0,73	4,75	0,46	< LD	< LD
RV4	4	4,46	2,60	2,79	< LD	0,97	0,22	0,76
RV4A	4	3,02	2,51	2,85	27,51	1,31	0,15	0,06
RV6	4	19,43	10,69	8,54	1,19	1,25	0,33	< LD
RV7	4	5,80	3,79	2,34	19,50	0,81	< LD	1,86
RV8	4	11,10	3,54	2,83	1,30	3,22	< LD	0,22
RV9	4	9,78	4,08	4,45	39,34	0,73	< LD	2,84
RV10	4	28,92	15,15	5,56	38,67	2,94	0,73	7,54

4.4.1.- Fraccionamiento medio

A partir de los resultados de la Tabla 26, se pueden calcular los valores de fraccionamiento medio de cada uno de los elementos, que se muestran en la Tabla 27.

Tabla 27.- Fraccionamiento B.C.R. medio

Fracción	Elemento						
	Cr	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Pb
1	0,04	0,23	0,22	2,29	0,25	< LD	0,03
2	0,48	0,37	0,69	1,98	0,67	0,05	1,27
3	0,13	0,67	1,62	2,71	0,18	< LD	0,26
4 (Residual)	9,17	4,37	3,05	14,65	1,63	0,14	1,61

Los valores aparecen representados en forma de diagrama de barras en la Figura 51. Hay que recordar que, en el fraccionamiento químico B.C.R., la movilidad y disponibilidad de los metales tóxicos, y por tanto su potencial peligrosidad medioambiental, va disminuyendo en el orden 1 > 2 > 3 > 4 (Residual), y de ahí el código de colores elegido para la representación gráfica.

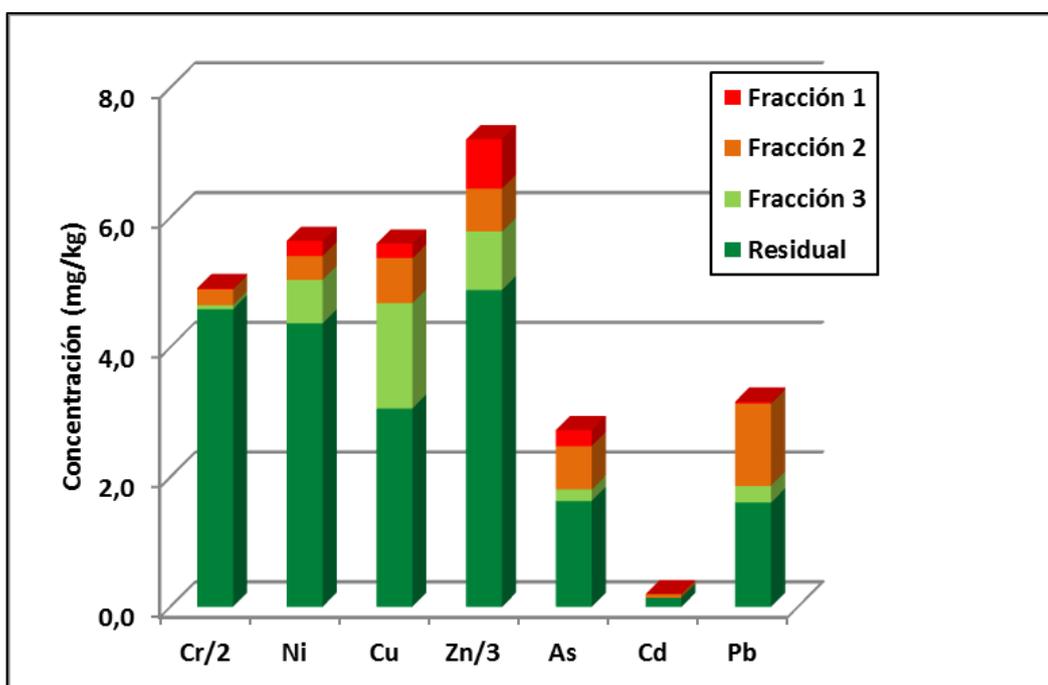


Figura 51.- Fraccionamiento B.C.R. medio

A la vista de las anteriores tabla y figura, se aprecia que todos los elementos aparecen mayoritariamente en la Fracción 4 (Residual) que es la menos disponible, aunque el Pb, aparece repartido entre dicha Fracción 4 y la Fracción 2, más movilizable. Si esto se combina con el bajo contenido pseudototal medio, se puede inferir que la peligrosidad medioambiental de las muestras es prácticamente inexistente.

4.4.2.- Análisis en Componentes Principales

En la Tabla 28 se muestra la matriz de correlación de las variables correspondientes al fraccionamiento químico, con los valores significativos en negrita. Al igual que en 4.4.1 los valores < LD han sido sustituidos por 0,00.

Tabla 28.- Matriz de correlación del fraccionamiento químico B.C.R.

	Cr	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Pb
Cr	1,000 ----						
Ni	0,956 <i>0,000</i>	1,000 ----					
Cu	0,618 <i>0,000</i>	0,711 <i>0,000</i>	1,000 ----				
Zn	0,613 <i>0,000</i>	0,605 <i>0,000</i>	0,407 <i>0,009</i>	1,000 ----			
As	0,634 <i>0,000</i>	0,493 <i>0,001</i>	0,284 <i>0,076</i>	0,354 <i>0,025</i>	1,000 ----		
Cd	0,841 <i>0,000</i>	0,881 <i>0,000</i>	0,503 <i>0,001</i>	0,491 <i>0,001</i>	0,474 <i>0,002</i>	1,000 ----	
Pb	0,629 <i>0,000</i>	0,568 <i>0,000</i>	0,226 <i>0,160</i>	0,641 <i>0,000</i>	0,483 <i>0,002</i>	0,659 <i>0,000</i>	1,000 ----

En cursiva aparecen los valores de p a posteriori con un $\alpha = 0,05$

Dado el elevado número de grados de libertad, $40-2 = 38$, el r_{critico} con $\alpha = 0,05$ resulta ser 0,312, por lo que solo hay dos parejas que cuya correlación no es significativa, As-Cu y Pb-Cu, apareciendo de nuevo el comportamiento diferencial del As, tal y como ocurría en los contenidos totales y pseudototales.

La matriz de cargas aparece en la Tabla 29 con los dos primeros factores significativos que explican un 77,70% de la varianza. Los valores máximos de los coeficientes para cada factor están señalados en negrita, encontrándose en el primer factor para todos los elementos excepto para el As, cuyo valor máximo se sitúa en el tercer factor.

En la representación gráfica de los dos primeros factores (Figura 52) se aprecia como todos los elementos están situados en la zona positiva del eje de abscisas (Factor 1), mientras que el eje de ordenadas (Factor 2) permite distinguir dos comportamientos diferentes: Pb, As y Zn por un lado, y Cu, Ni, Cr y Cd por otro.

Tabla 29.- Tabla de cargas (loadings) del fraccionamiento químico

Elemento	Factor o componente						
	1	2	3	4	5	6	7
Cr	0,956	-0,072	0,112	0,061	-0,146	-0,193	-0,076
Ni	0,946	-0,236	-0,003	0,131	-0,127	-0,082	0,098
Cu	0,666	-0,647	-0,039	-0,249	0,270	0,038	-0,014
Zn	0,726	0,218	-0,495	-0,374	-0,185	0,078	-0,005
As	0,649	0,315	0,617	-0,308	0,005	0,063	0,014
Cd	0,884	-0,031	0,035	0,406	-0,043	0,222	-0,026
Pb	0,748	0,517	-0,200	0,127	0,333	-0,075	0,009
Valor propio	4,542	0,896	0,681	0,498	0,257	0,110	0,017
% Varianza	64,90	12,80	9,70	7,10	3,70	1,60	0,200
% Var. acum.	64,90	77,70	87,40	94,50	98,20	99,80	100,000

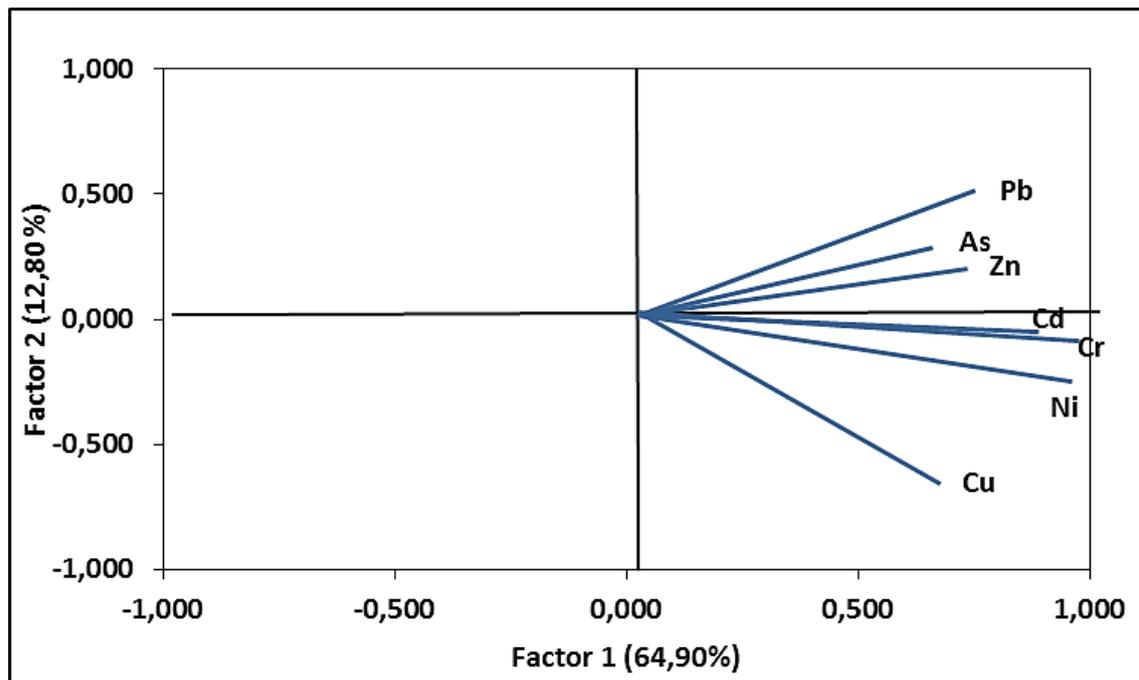


Figura 52.- Gráfico de cargas del fraccionamiento químico

La Figura 53 muestra los dos primeros factores en función de la Fracción B.C.R (sus valores no se presentan en aras de la brevedad). Esto permite visualizar el 77,70% de la información presente en la Tabla 26, en lo correspondiente a las relaciones entre las muestras analizadas respecto del fraccionamiento químico.

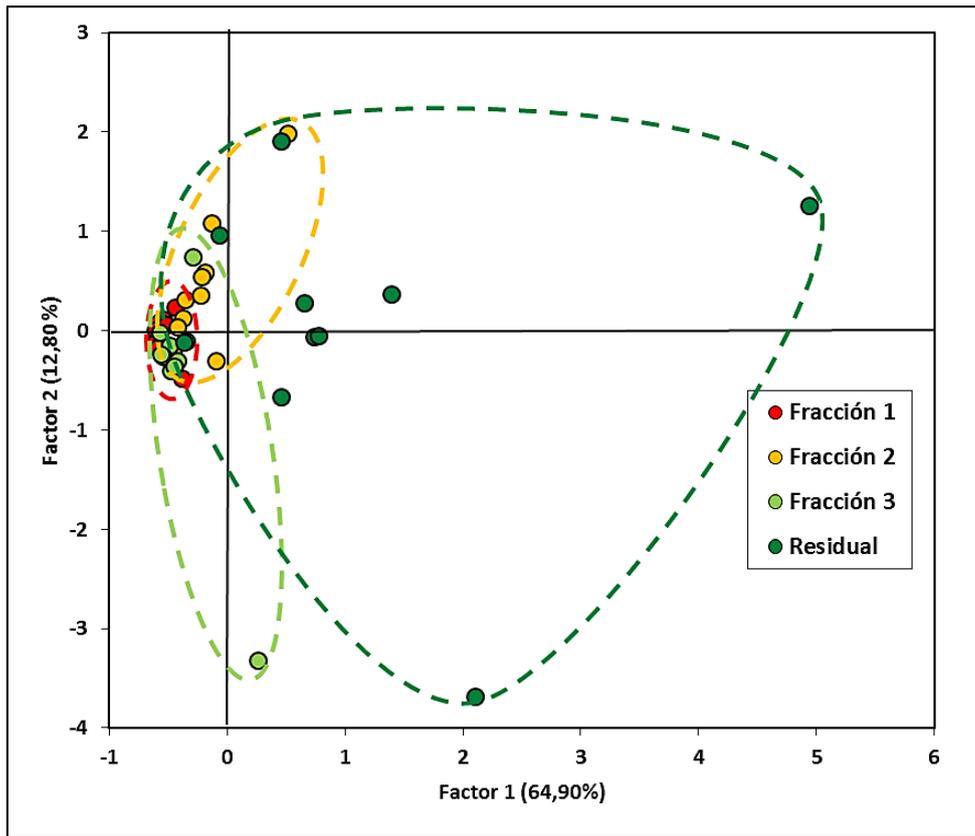


Figura 53.- Gráfico de puntuaciones del fraccionamiento químico

La Fracción Residual tiende a aparecer hacia la derecha del eje de abscisas, mientras que la Fracción 1 se concentra en el lado negativo de dicho eje. Las Fracciones 2 y 3 tienden a agruparse de forma simétrica respecto al eje de abscisas, con la Fracción 2 dirigiéndose hacia el primer cuadrante, y la Fracción 3 hacia el cuarto.

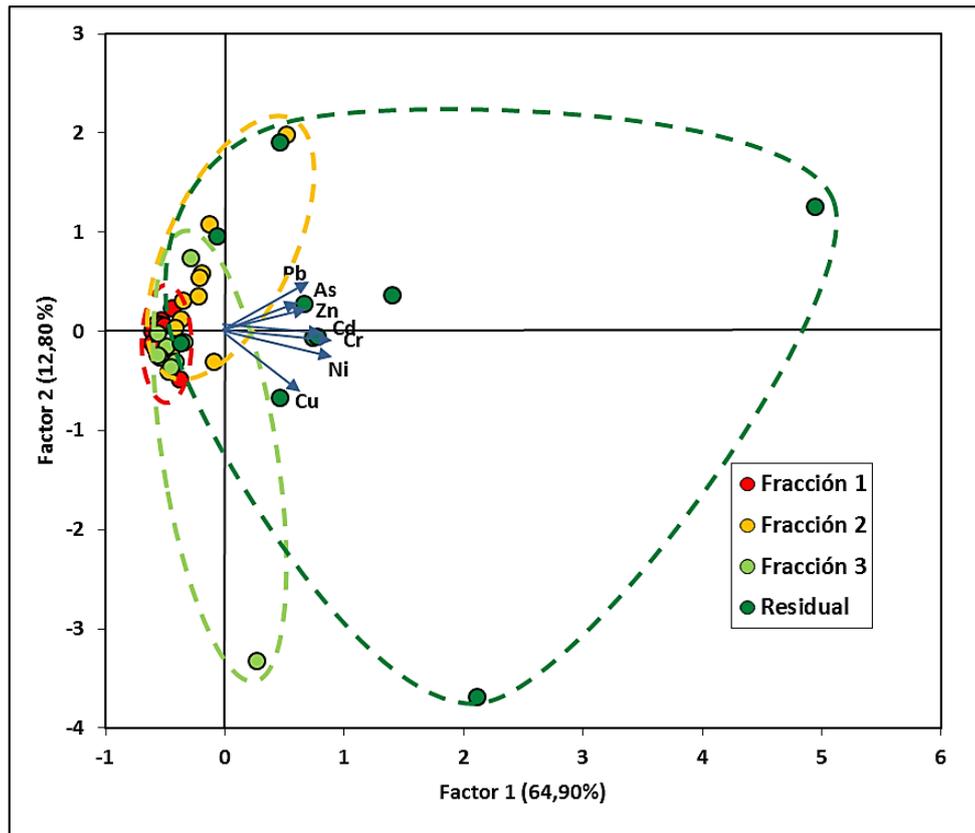


Figura 54.- Gráfico bivariado del fraccionamiento químico

El gráfico bivariado (Figura 54) permite visualizar las relaciones entre las muestras y las variables en función de la situación relativa de unas y otras en el espacio abstracto de los dos factores. La interpretación es inmediata: la Fracción 1 está alejada de las variables indicando que la misma contiene los menores valores de los elementos. Por el contrario, la Fracción residual se sitúa preferentemente al lado de las variables, indicando que, en general, dicha fracción contiene las mayores concentraciones de metales tóxicos. Las Fracciones 2 y 3 tienen un comportamiento intermedio, estando ambas mayoritariamente lejos de las variables, pero dirigiéndose la Fracción 2 hacia el primer cuadrante, indicando que esa Fracción puede contener en ocasiones As y Pb, mientras que la Fracción 3 está dirigida hacia el cuarto cuadrante, mostrando cierta tendencia a contener Cu.

El problema de la interpretación es que, dada la estructura de la matriz de datos X de la Tabla 26, cada muestra aparece en la Figura 54 cuatro veces (una por fracción). Para separar los comportamientos de muestras y fracciones, se utilizan métodos multivariantes avanzados, como el A.C.P. de tres vías (Pardo et al, 2008; Cid et al, 2011), del que se hablará en próximos apartados. Una forma aproximada es calcular el valor medio de las puntuaciones de cada una de las fases, y representarla en un gráfico bivariado promedio, tal como el que se muestra en la Figura 55.

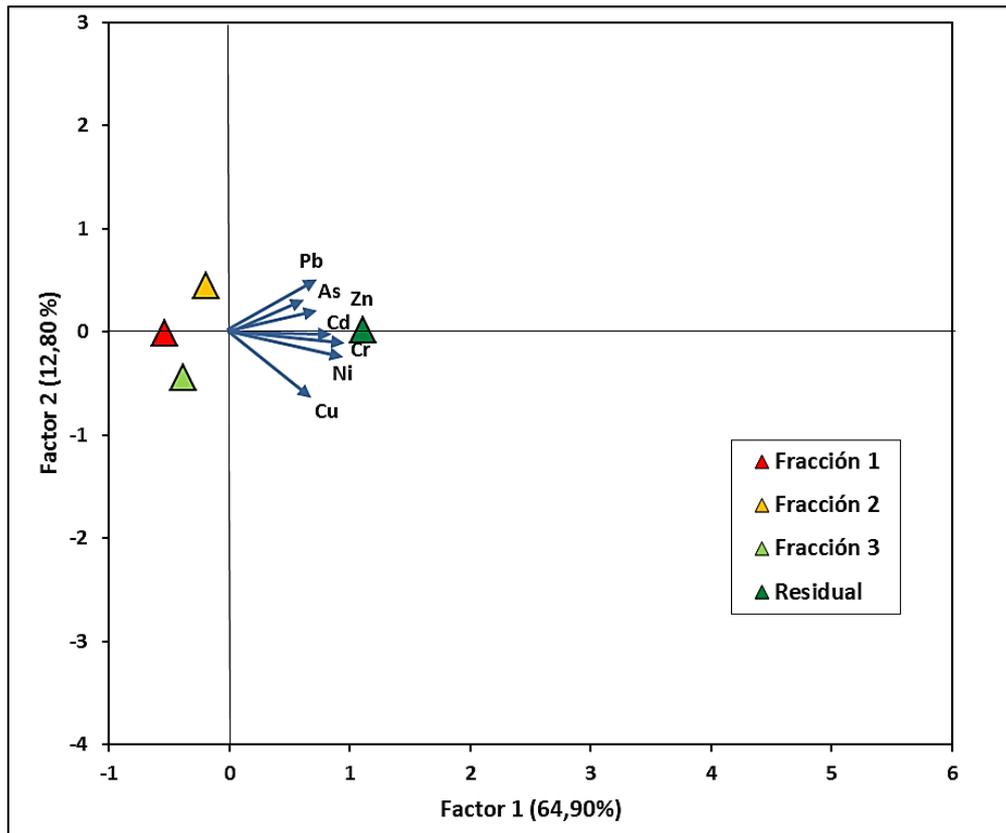


Figura 55.- Gráfico promedio de puntuaciones del fraccionamiento químico

Dicho gráfico es de interpretación más simple y confirma lo dicho más arriba, en el sentido de que los metales tienden a aparecer preferentemente en la Fracción Residual, menos disponible y de más difícil removilización y, por tanto, menos peligros medioambientalmente.

En este caso la rotación Varimax tampoco permite mejorar la interpretación, por lo que sus resultados no se muestran en la memoria.

4.4.3.- Análisis de Conglomerados

La Figura 56 presenta el dendrograma correspondiente a los elementos analizados, utilizando como en los otros casos el valor de $d_{ij} = 1 - r_{ij}$ para cuantificar la distancia entre los elementos químicos, construyendo el dendrograma con el método de Ward.

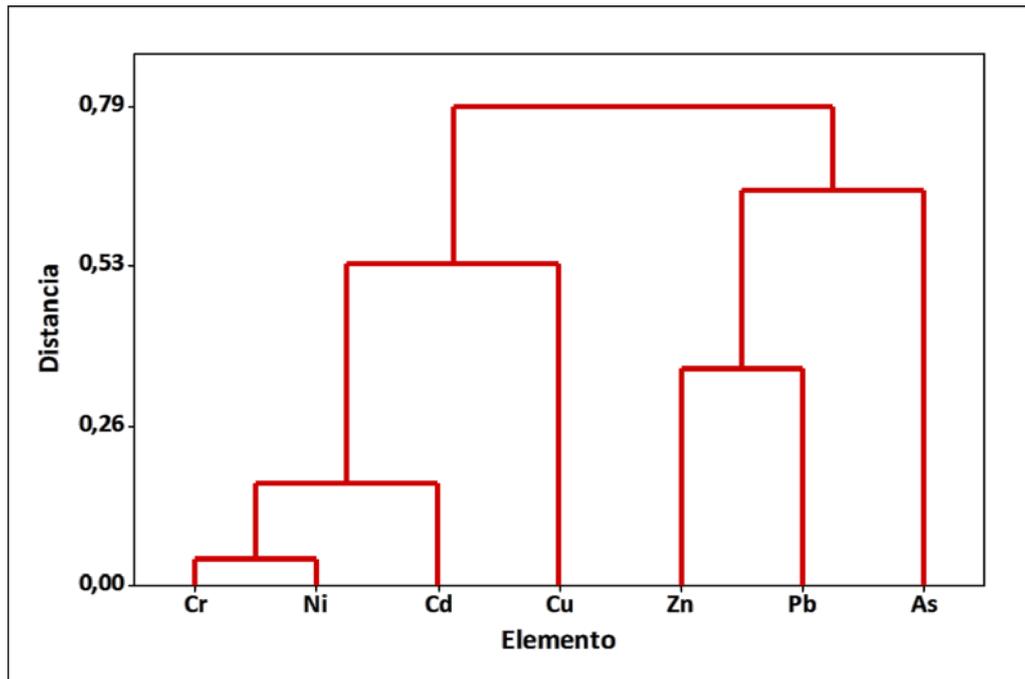


Figura 56.- Dendrograma de variable del fraccionamiento químico

De la observación de dicha Figura, se confirma la agrupación As, Cd, Pb, ya detectada en el gráfico de cargas del A.C.P. (Figura 52), así como el agrupamiento muy compacto de Cr, Ni y Cd, y el levemente diferente del Cu, detectados en el antedicho gráfico de cargas.

La Figura 57 presenta el dendrograma correspondiente a las muestras de sedimentos, utilizando la distancia euclídea de variables autoescaladas y el método de Ward, rotulado en función de la Fracción a la que pertenece la muestra (recordemos que cada sedimento original aparece cuatro veces en ese dendrograma). Se aprecian las mismas tendencias vistas en el A.C.P. Así, se visualizan dos agrupamientos bastante compactos para las Fracciones 1 y Residual y ubicadas en ramas muy separadas del dendrograma, indicando comportamientos opuestos respecto al contenido en los metales analizados. Las Fracciones 2 y 3 están mayoritariamente junto a la 1, pero aparecen mezclas entre sí.

En este caso no se muestra el mapa de temperatura (*heat map*) ya que su interpretación es complicada y no aporta nada a lo anteriormente dicho.

Como en el caso de los contenidos pseudototales, el A.C. confirma todas las conclusiones extraídas del A.C.P. y vuelve a poner de manifiesto la complementariedad de ambas técnicas quimiométricas.

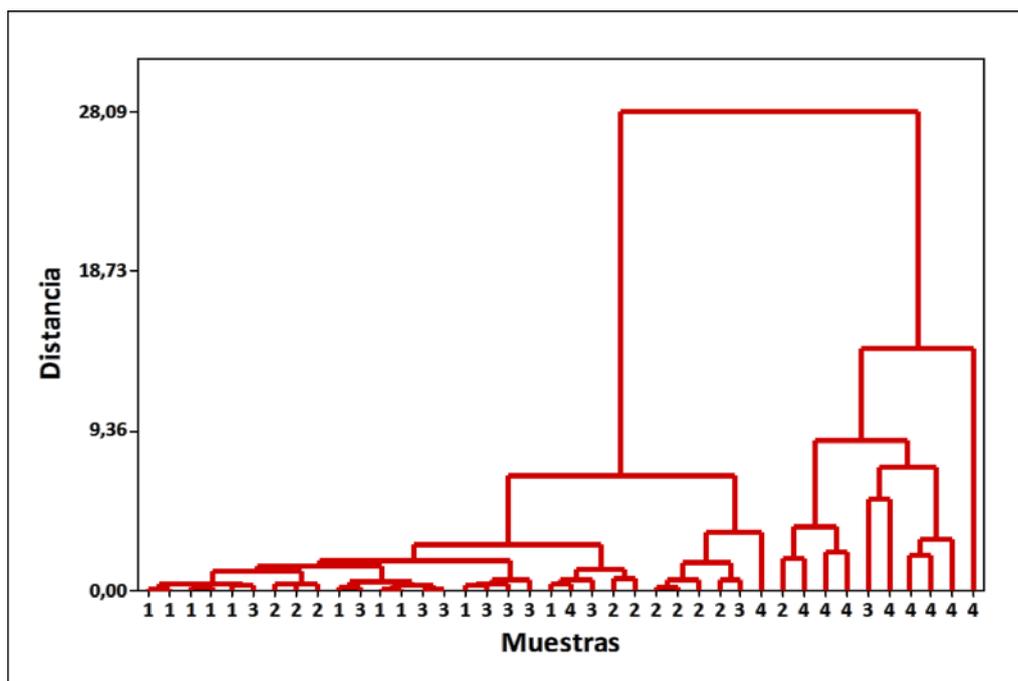


Figura 57.- dendrograma de objetos del fraccionamiento químico

4.4.4.- Análisis Multivía o N-way

El Análisis multivía o N-way aplicado al fraccionamiento químico permite distinguir el comportamiento entre muestras y fracciones, algo que con el A.C.P. no se conseguía diferenciar, ya que mediante el A.C.P. aparecen de forma conjunta las puntuaciones de muestras y fracciones. En el análisis multivía se van a obtener tres matrices de cargas diferentes: una para muestras (**A**), otra para elementos (**B**) y otra para las fracciones (**C**).

En primer lugar, para realizar el análisis multivía se normaliza a media 0 y varianza 1 la matriz de datos del fraccionamiento químico (Tabla 26), obteniéndose una matriz normalizada tridimensional (muestras x elementos x fracciones). A continuación, mediante el programa informático Matlab se realiza la búsqueda del modelo más sencillo y que a la vez explique de la mejor forma posible los resultados del fraccionamiento químico.

En este trabajo se estudiaron los posibles modelos aportados por el modelo PARAFAC sin encontrar uno que aportase la explicación adecuada a los resultados experimentales del fraccionamiento químico.

Por el contrario, el modelo Tucker 3 aportó varios modelos que resultaban adecuados para explicar la información contenida en el fraccionamiento químico. La Figura 58 presenta la varianza explicada por cada uno de los modelos posibles frente a su dimensionalidad. La dimensionalidad se estudió hasta el valor (3, 3, 3), ya que los modelos con mayor dimensionalidad resultaban ser más complejos. A la vista del gráfico se eligió que el modelo más adecuado era el [1, 2, 2], ya que explicaba un 61,14% de la varianza. Por tanto, los elementos y las fracciones tendrán dos factores significativos, mientras que las muestras solo tendrán un factor.

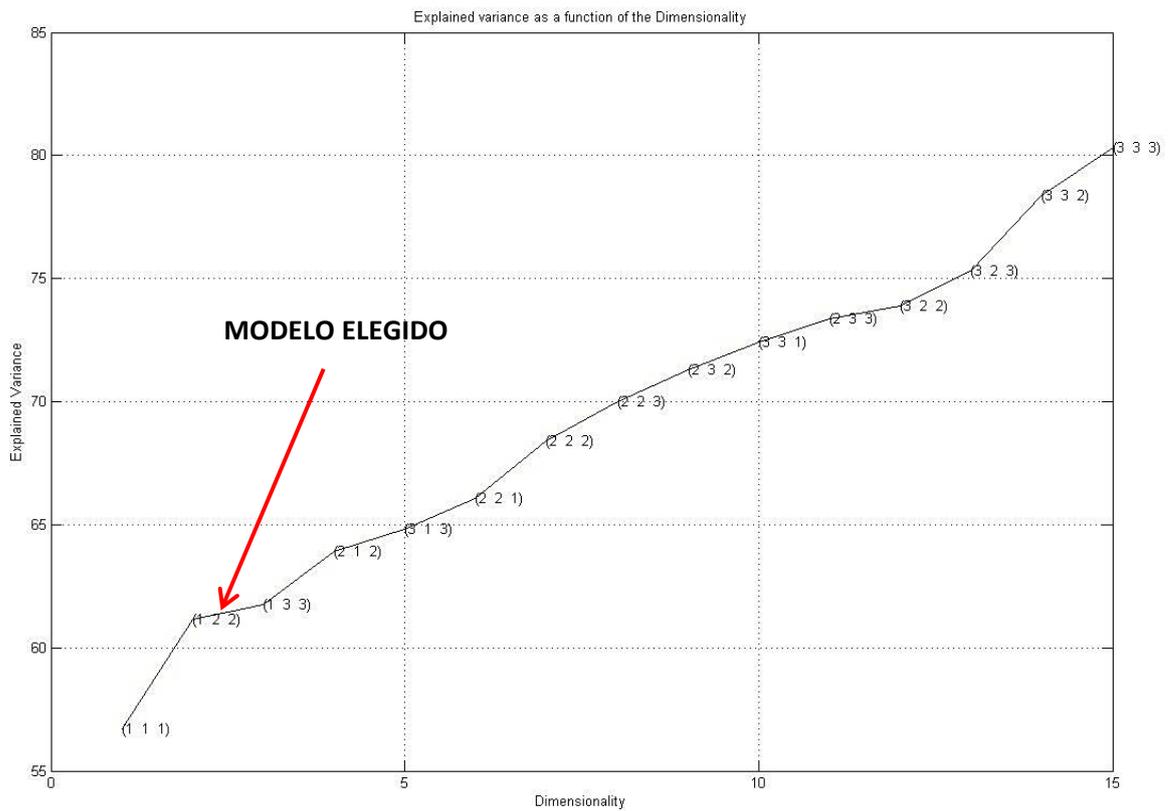


Figura 58.- Gráfico de la varianza explicada por los modelos frente a su dimensionalidad

La matriz G del core del modelo elegido [1, 2, 2] indica las interacciones significativas entre los factores: aquéllas con valores diferentes de 0 La Tabla 30 presenta la matriz G y la varianza explicada por cada una de las interacciones significativas.

Tabla 30.- Matriz G e interacciones significativas

<u>G</u>		<u>%</u>	
		Interacción	Varianza explicada
-12,43	0,00	111	56,59
0,00	3,52	122	4,55

En la Figura 59 aparecen los gráficos de cargas correspondientes a la interacción (1,1,1), por su parte la Figura 60 presenta los correspondientes a la interacción (1,2,2).

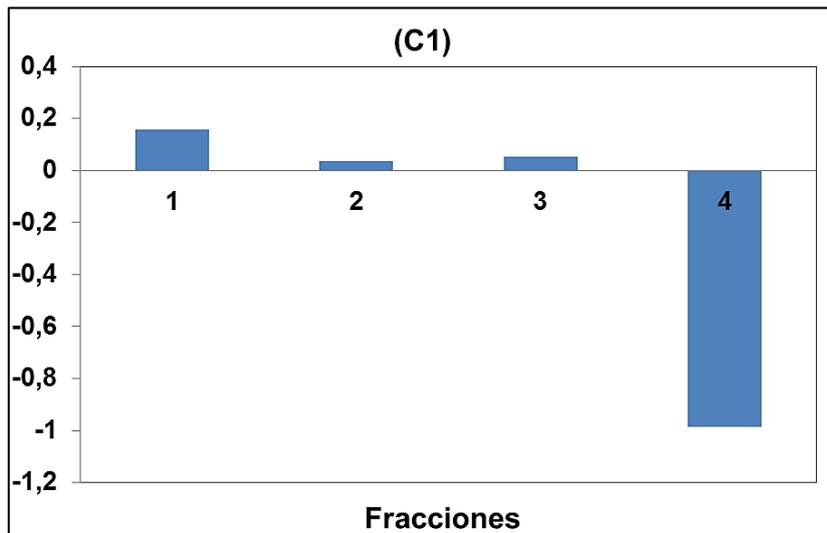
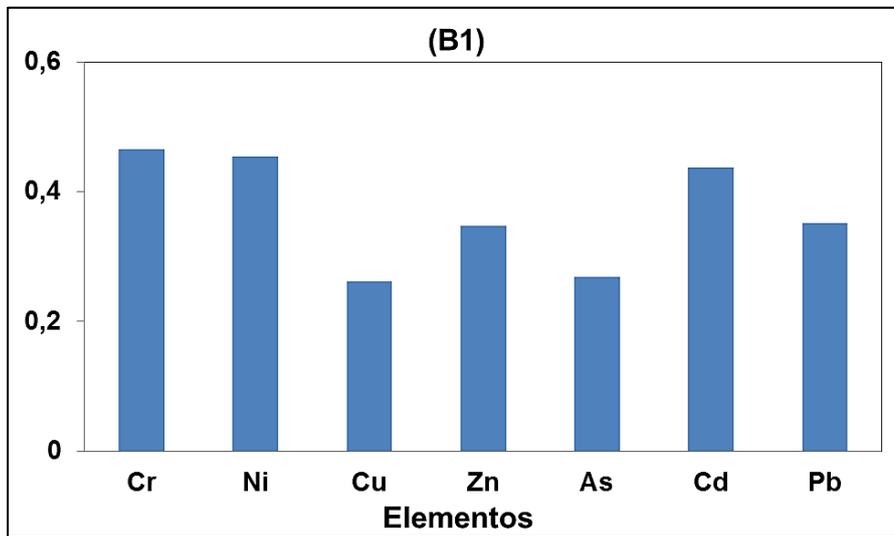
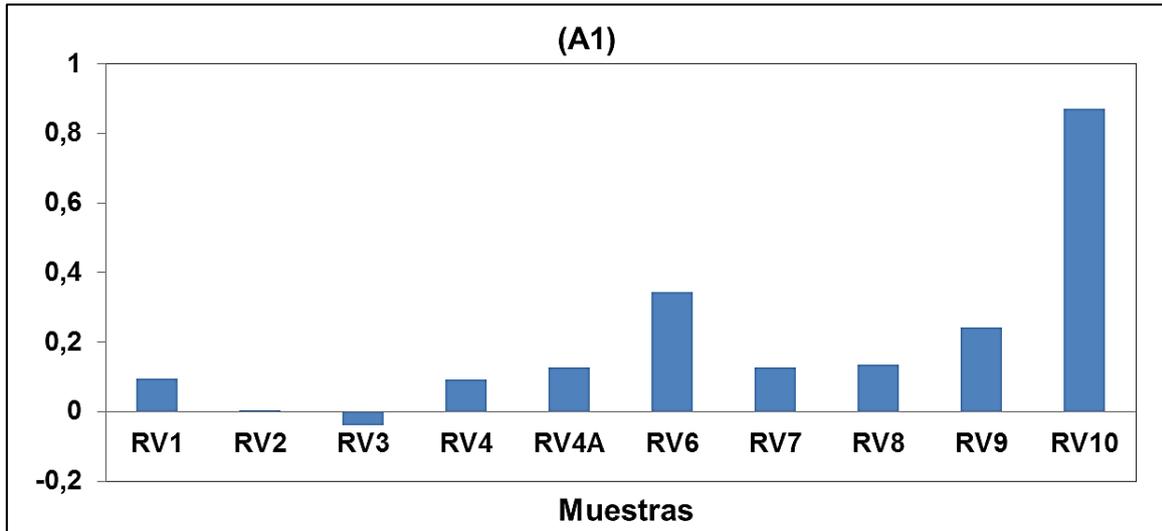


Figura 59.- Gráficos de cargas para la interacción (1,1,1)

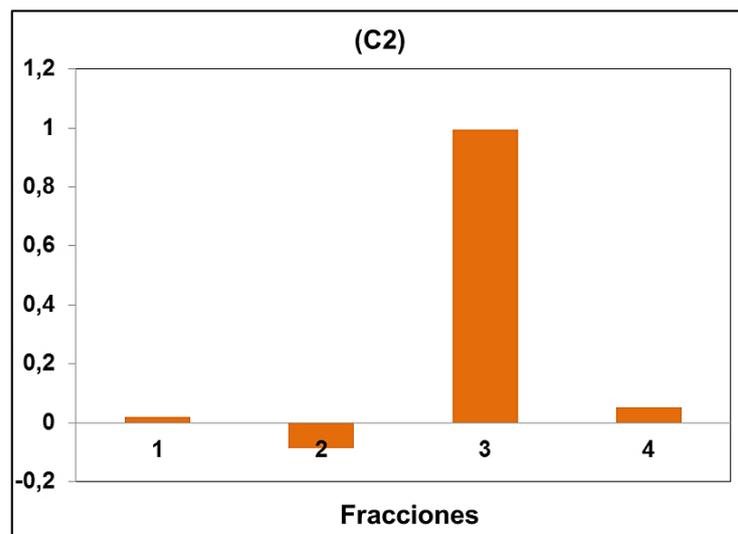
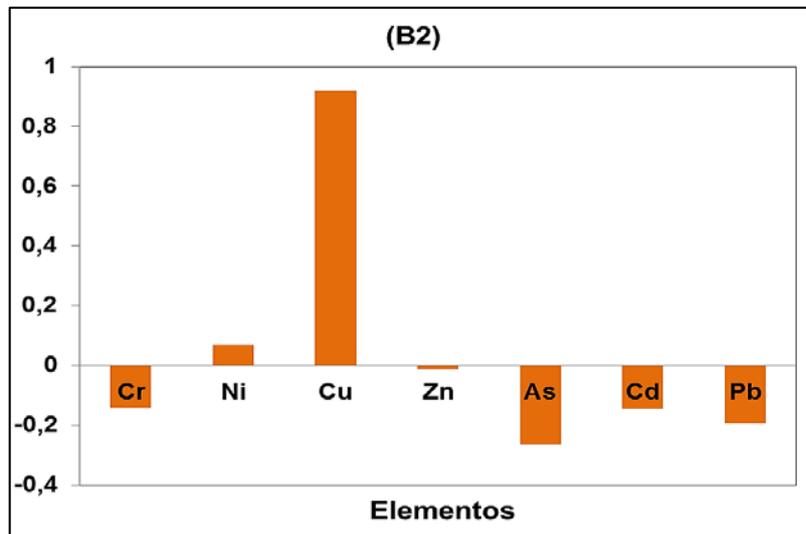
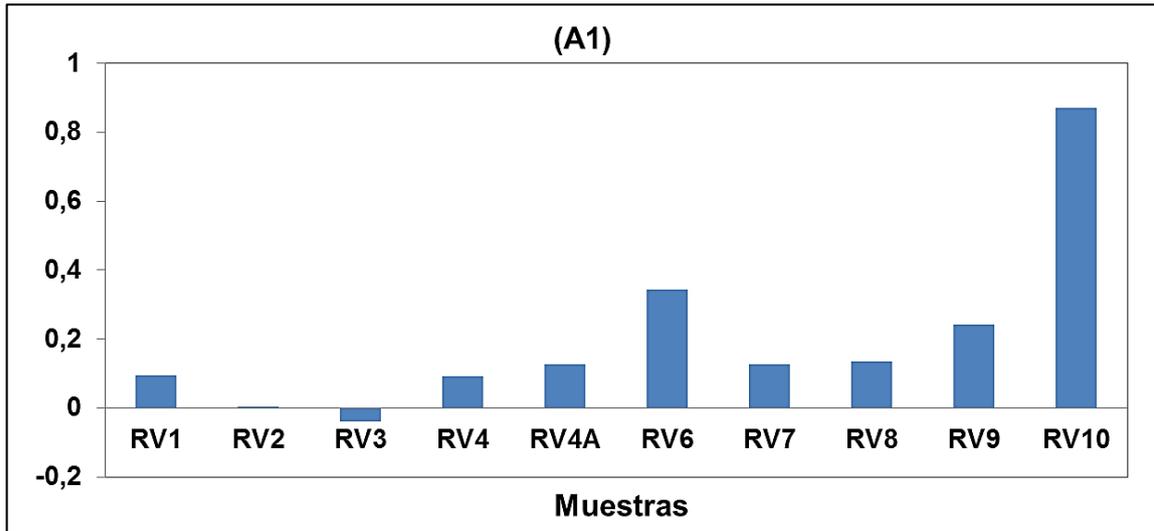


Figura 60.- Gráfico de cargas de la interacción (1,2,2)

La interacción (1,1,1) explica un 56,59% de la varianza, por lo que es la principal de ambas interacciones significativas. De acuerdo con el modelo Tucker 3, con la regla de propagación de signos en la multiplicación y a que el signo resultante de x_{ijk} debe ser positivo, se observa que están relacionadas todas las muestras (+) con todos los metales (+) y con la fracción 4 o residual (-), debido a que el valor de $g_{111} = -12,43$, es negativo,. En definitiva, esta interacción indica que todas las muestras tienen el mayor contenido en metales en la fracción residual.

$$x_{ijk} = \sum_{l=1}^L \sum_{m=1}^M \sum_{n=1}^N a_{il} b_{jm} c_{kn} g_{lmn} + e_{ijk} \quad \text{Modelo Tucker 3}$$

Por su parte, la interacción (1,2,2) explica un 4,55% de la varianza El valor de $g_{122} = 3,52$, positivo, por lo que la mayor parte de las muestras (+), excepto la muestra RV3 (-), estarán relacionadas con el Cu (+) y Ni (+), en menor proporción, y con la fracción 3 (+). Es decir, todas las muestras excepto la RV3, tienen un alto contenido de Cu en la fracción 3. En cambio, la muestra RV3 (-) presenta alto contenido en los metales Cr, Zn, As, Cd y Pb, todos (-), en la fracción 3 (+). Esta interacción permite realizar una mayor diferencia entre las muestras.

En ambas interacciones, cabe destacar el comportamiento de la muestra RV10 que destaca del resto de las demás, tanto en la fracción residual con un alto contenido en todos los metales, como en la fracción 3 con un alto contenido en Cu. La siguiente muestra que destaca y presenta un contenido alto en metales es la RV6, de la misma forma que lo hace RV10.

Por tanto, a diferencia del A.C.P., el Análisis Multivía ha conseguido explicar el comportamiento diferencial de cada una de las muestras según cada una de las fracciones. En definitiva, el Análisis Multivía resulta un método quimiométrico mucho más completo que el A.C.P. o el A.C.

Capítulo 5
CONCLUSIONES

Se ha llevado a cabo un estudio por vez primera, de los metales tóxicos Cr, Ni, Cu, Zn, As, Cd y Pb en muestras de sedimentos fluviales procedentes del río Quinto (San Luis, Argentina) a través de técnicas de Rayos X y métodos de extracción/lixiviación, ambas herramientas ampliamente utilizadas en el estudio de la peligrosidad medioambiental de muestras sólidas.

Para ello, se han estudiado 11 muestras de sedimentos tomados a lo largo del río Quinto, desde su nacimiento hasta su salida de la provincia de San Luis y que fueron proporcionadas por el Dr. Fabricio D. Cid de la Universidad de San Luis. Los puntos de muestreo cubren puntos significativos del cauce (embalses, poblaciones...).

Los extractos generados mediante los procedimientos de extracción fueron determinados, mediante ICP-OES e ICP-MS. Dichas técnicas fueron previamente puestas a punto, y los procedimientos validados mediante los correspondientes Materiales de Referencia, ERA 540 para la EPA-3051 3051 y MRC 601 para el fraccionamiento químico, obteniéndose en ambos casos resultados satisfactorios.

Fases cristalinas

Las fases cristalinas más predominantes en los sedimentos se han determinado mediante la técnica de DRX. Todas las muestras presentan como fase principal el cuarzo, presentando una estructura cristalina similar en todos los casos a excepción de RVSal. La muestra RVSal presenta una clara diferencia al contener como segunda fase mayoritaria la calcita. Como resultado, se decidió eliminar dicha muestra para las siguientes determinaciones.

Contenidos totales

Los contenidos totales de elementos han sido determinados a través de la técnica de FRX realizando el análisis directamente a las muestras de sedimentos.

El Zn es el único elemento que presenta una concentración total media superior a 40 mg/kg. Además, todos los elementos, a excepción del Zn presentan distribuciones sesgadas.

El A.C.P. mostró un comportamiento diferencial de Pb y As respecto del resto de elementos, estando estos correlacionados en un factor significativo que explica el 65,73% de la información. Además, el A.C.P. ha permitido localizar las muestras RV3, RV4, RV4A, RV8 y RV9 como las que presentan mayor contenido total en Pb y As. Por otra parte, las muestras RV1 y RV2 presentan bajos contenidos en todos los elementos.

El A.C. ha confirmado las tendencias de correlación de los elementos vistas en el A.C.P, y con la ayuda de un mapa de temperatura (heat map) se ha podido matizar las tendencias correspondientes a las muestras y visualizar las que presentaban mayor contenido total de elementos, RV6, RV7 y RV10.

Contenidos pseudototales

Los contenidos movilizables o pseudototales, se han determinado mediante la aplicación de la norma US-EPA 3051.

En cuanto a estos contenidos, todos los elementos presentan concentraciones medias inferiores a 10 mg/kg, excepto Cr y Zn. Se ha podido comprobar que estos contenidos movilizables representan menos del 30% del contenido total de elementos, encontrándose muy por debajo de los niveles guía de los criterios de calidad ambiental más utilizados.

El estudio mediante A.C.P. ha demostrado el comportamiento diferencial del As respecto del resto de los elementos. Estos últimos aparecen correlacionados en un factor significativo (70,54% de información) mientras que el As explica el 20,23% de la información en un factor también significativo. El A.C.P. ha permitido además localizar las muestras, RV6, RV9 y RV10, con contenidos mayores en metales pseudototales.

El A.C. ha confirmado las tendencias observadas con el A.C.P. en lo relativo a los elementos. Igualmente, ha permitido matizar las tendencias correspondientes a las muestras, mediante un mapa de temperatura (*heat map*), que permite visualizar las muestras con mayores niveles de metales pseudototales, RV6, RV9 y RV10.

Fraccionamiento químico

Los contenidos pseudototales han sido divididos en fracciones de peligrosidad decreciente, mediante el procedimiento de extracción secuencial B.C.R., que produce tres fracciones. Una cuarta fracción, 4 o Residual, se obtiene restando del contenido pseudototal, la suma de las 3 fracciones antedichas.

Del fraccionamiento medio se deduce que todos los elementos aparecen mayoritariamente en la Fracción 4 (Residual) que es la menos disponible, aunque el Pb aparece casi a partes iguales en dicha Fracción 4 y en la Fracción 2, más movilizable.

El A.C.P. indica la elevada correlación entre todos los elementos, concentrados en un factor significativo (64,90% de la información). Un segundo factor (12,80%) permite diferenciar Cu del resto de los elementos. El A.C.P. también confirma que todos los elementos están concentrados mayoritariamente en la Fracción 4 o residual, así como que la 2 contienen más As y Pb, mientras que la 3 contiene más Cu. El A.C. de las variables confirma las tendencias indicadas por el A.C.P., mientras que el de las muestras visualiza el comportamiento muy diferenciado de la Fracción 4.

Mediante el Análisis Multivía se ha podido observar que todas las muestras presentan el mayor contenido de metales en la Fracción 4 o residual. Además, todas las muestras a excepción de la RV3 tienen un alto contenido de Cu en la Fracción 3. Así mismo, el Análisis Multivía ha permitido conocer que la muestra RV10, en comparación con el resto de las muestras, es la que tiene mayor contenido de metales en todas las fracciones

A la vista de los bajos contenidos pseudototales o movilizables y de que los elementos estén concentrados mayoritariamente en la Fracción Residual, se puede concluir la baja o nula peligrosidad medioambiental, en lo referente a los metales tóxicos estudiados, de los sedimentos del río Quinto.

Capítulo 6
BIBLIOGRAFÍA

- Alloway, J. (Ed.) (2013) Heavy Metals in Soils: Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability. Environmental Pollution, Volume 22. 3rd Edition. ISBN: 978-94-007-4469-1.
- Abollino O., Malandrino M., Giacomino A., Mentasti E. (2011) The role of chemometrics in single and sequential extraction assays: A review Part I. Extraction procedures, uni- and bivariate techniques and multivariate variable reduction techniques for pattern recognition, *Anal. Chim. Acta*, 688: 104-121.
- Bermúdez Polonio, J. (1981) Métodos de difracción de rayos X. Principio y aplicaciones. Pirámide. ISBN: 84-368-0180-6
- Carrillo. A., Morton. O., González. E., Rivas. H., Oesler. G., García. V., Hernández. E., Morales. P., Cienfuegos. E. (2003) Environmental geochemistry of the Guanajuato Mining District, Mexico. *Science Direct*. 23: 277-297
- Carrillo. A., Salas. E., Levresse. G., Muñoz. C., Perez. O., Gerke. T. (2014) Geochemistry and mineralogy of mine-waste material from a "skarn-type" deposit in central Mexico: Modeling geochemical controls of metals in the surface environment., *Journal of Geochemical Exploration*., 144: 28-36.
- Coelho. P., Silva. S., Roma. J., Costa. C., Henriques. A., Teixeira. J., Gomes. M., Mayan. O. (2007) Health impact of living near an abandoned mine- Case study: Jales mines., *Science Direct*., 210: 399-402.
- Cruz-Guzmán Alcalá M. (2007) La contaminación de suelos y aguas. Su prevención con nuevas sustancias naturales. Secretariado de publicaciones de la Universidad de Sevilla. ISBN 978-84-472-0926.
- Davidson C.M., Duncan A.L., Littlejohn D., Ure A.M., Garden L.M. (1998) A critical evaluation of the three-stage BCR sequential extraction procedure to assess the potential mobility and toxicity of heavy metals in industrially-contaminated land, *Anal. Chim. Acta*, 363: 45-55.
- Departamento de Química Analítica. Apuntes de Quimiometría y Control de Calidad. Parte de Métodos Multivariantes. Curso 2013-2014.
- Duffus, J.H. (2002) "Heavy metals"- A meaningless term, *Pure Appl. Chem.*, 74(5): 793-807.
- Giacomino A., Abollino O., Malandrino M., Mentasti E. (2011) The role of chemometrics in single and sequential extraction assays: A Review. Part II. Cluster analysis, multiple linear regression, mixture resolution, experimental design and other techniques, *Anal. Chim. Acta*, 688: 122-139.
- Gleyzes C., Tellier S. and Astruc M. (2002) Fractionation studies of trace elements in contaminated soils and sediments: a review of sequential extraction procedures, *TrAC*, 21: 451-467.
- Griepink B. (1993) Some Considerations with Regard to the Quality of Results of Analysis of Trace Element Extractable Contents in Soil and Sediment, *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 51:123-128.
- Gutiérrez. M., M. Romero. F., González. G. (2007) 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*., 24: 170-184.
- Härup, L. (2003). Hazards of heavy metal contamination, *Brit. Med. Bull.*, 68: 167-182.
- Henke K.R., (2009) Arsenic: Environmental Chemistry, Health Threats and Waste Treatment, Wiley Online library
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470741122.ch1/pdf>
(fecha de acceso 24/07/2014).

- Hodson, M.E. (2004) Heavy metals - geochemical bogey men?, *Environ. Pollut.*, 129: 341-343.
- John. W.M, Stewart. R. B, Gregg. P.E.H, Bolan. N.S, Horne. D. (1996). An assessment of sulphide oxidation in abandoned base-metal tailings, te aroha, New Zealand. *Environmental Pollution.*, 94:217-225.
- Johnson, D.; Whittle, K. J. (1999)The chemistry of the Hispanic-American amalgamation process, *Chem. Soc. Dalton Trans.*, 4239–4243
- Juárez. J.C., Riera. I., Patiño. F., Reyes. M.I. (2012) Efecto de la temperatura y concentración de tiosulfatos sobre la velocidad de disolución de plata contenida en desechos mineros usando soluciones $S_2O_3^{2-}-O_2-Zn^{2+}$., *Información Tecnológica.*, 23: 133-138.
- Juárez. J.C., Riera. I., Patiño. F., Reyes. M.I. (2012) Estudio Cinético de la lixiviación de plata en el Sistema $S_2O_3^{2-}-O_2-Cu^{2+}$., *Información Tecnológica.*, 24: 51-58.
- Kabata-Pendias, A. (2011) Trace Elements in Soils and Plants. CRC Press. Taylor & Francis Group. ISBN 9781420093681.
- Kubová J., Matús P., Bujdos M., Hagarová I., Medved J. (2008) Utilization of optimized BCR three-step sequential and dilute HCl single extraction procedures for soil-plant metal transfer predictions in contaminated lands, *Talanta*, 75:1110-1122.
- Li CX., Zhong H., Wang S., Xue JR.. (2014) Leaching behavior and risk assessment of heavy metals in a landfill of electrolytic manganese residue in western Hunan, China, *Hum. Ecol. Risk Assess.*, 20: 1249-1263.
- Loureiro. S., Ferreira. A., Soares. A., Nogueira. A. (2005) Evaluation of the toxicity of two soils from Jales Mine (Portugal) using aquatic bioassays., *Chemosphere.*, 64: 168-177.
- Madrid F., Reinoso R. Florido M.C., Díaz Barrientos E., Ajmone-Marsanc F., Davidson, C.M., Madrid L. (2007) Estimating the extractability of potentially toxic metals in urban soils: A comparison of several extracting solutions, *Environ. Pollut.*, 147:713-722.
- Manceau A., Marcus M.A., Tamura N.,Proux O., Geoffroy N., Larson B. (2004) Natural speciation Zn at the micrometer scale in a clayer soil using X-ray fluorescence absorption and diffraction, *Geochim. Cosmochim. Acta*, 68: 2467-2483.
- Marguá. E., González. O., Hidalgo. M., Pardini. G., Gueralt. I. (2011) Aplicación de la técnica de espectrometría de fluorescencia de rayos X en el estudio de la dispersión de metales en áreas mineras., *Boletín Geológico y Minero.*, 122: 273-286.
- Martin. F., Gutiérrez. M. (2010) Estudio coparativo de la peligrosidad de jales en dos zonas mineras localizadas en el sur y centro de México., *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana.*, 62: 43-53.
- Massart D.L., Vandeginste B.G.M., Buydens L.M.C., De Jong S., Lewi P-J., Smeyers-Verbeke J. (1998) Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part A. Elsevier. ISBN: 0444897240.
- Mossop K.F., Davidson C.M. (2003) Comparison of original and modified BCR sequential extraction procedures for the fractionation of copper, iron, lead, manganese and zinc in soils and sediments, *Anal. Chim. Acta*, 478: 111–118.
- Müller, R.O. (1972) Spectrochemical Analysis by X-Ray Fluorescence. Hilger. ISBN: 85-274-201-0
- Ojeda. C., Reyes. J. L. (2006) Recuperación de metales preciosos provenientes de presa de jales. XII Encuentro sobre procesamiento de minerales, Instituto de metalurgia, Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

- Okoro H.K. Fatoki O.S., Adekola F.A., Ximba B.J., Snyman R.G. (2012) A Review of Sequential Extraction Procedures for Heavy Metals Speciation in Soil and Sediments, *Journal of Environmental & Analytical Toxicology*, Open Access Scientific Reports, <http://dx.doi.org/10.4172/scientificreports.181> (fecha de acceso 24/07/2014).
- Pardo R., Barrado E., Métodos de Reconocimiento de Pautas (Pattern Recognition) (1988) en *Quimiometría*, Blanco M. y Cerdá V (Eds.) Cuadernos de Ciencias y Técnicas Ambientales, Universitat Autònoma de Barcelona, ISBN: 8474883954.
- Pardo R., Vega M., Barrado E., Castrillejo Y., Prieto F. (2002) Mobility and chemical fractionation of heavy metals in solids originating from the ferrite process, *Quim. Anal.*, 20: 187-195.
- Pardo R., Helena B.A., Cazurro C., Guerra C., Debán L., Guerra C.M., Vega M. (2004) Application of two- and three-way Principal Component Analysis to the interpretation of chemical fractionation results obtained by the use of the B.C.R. procedure, *Anal. Chim. Acta*, 523: 125-132.
- Pardo R., Vega M., Debán L., Cazurro C., Carretero, C. (2008) Modelling of chemical fractionation patterns of metals in soils by two-way and three-way principal component analysis, *Anal. Chim. Acta*, 606: 26-36.
- Pardo, R. (2010) Los metales pesados y el medio ambiente, *Alkaid*, 7: 36-43.
- Pardo R, Vega M, Barrado E, Castrillejo Y, Sánchez I. (2013) Three-way principal component analysis as a tool to evaluate the chemical stability of metal bearing residues from wastewater treatment by the ferrite process, *J. Hazard. Mater.*, 262:71-82.
- Pueyo, M., Mateu, J.; Rigol, A., Vidal, M., Lopez-Sanchez, J.F., Rauret, G (2008) Use of the modified BCR three-step sequential extraction procedure for the study of trace element dynamics in contaminated soils, *Environ. Pollut.*, 152: 330-341.
- Quevauviller Ph., Rauret G., Griepink B. (1993) Single and Sequential Extraction in Sediments and Soils, *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 51: 231-235.
- Ramis G. y García M.C. (2001) *Quimiometría*. Editorial Síntesis. ISBN: 8477389047.
- Ramos. M., Avelar. J., Medel. A., Yamamoto. L., Godinez. L., Ramirez. M., Guerra. R., Rodriguez. F. (2012) Metals mobility in tailings coming from the mining district of Guanajuato, Mexico, *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 28: 49-59.
- Rao C.R.M., Sahuquillo A., López Sánchez J.F. (2008) A review of different methods applied in environmental geochemistry for single and sequential extraction of trace elements in soils and related materials, *Water Air Soil Poll.*, 189: 291-333.
- Rauret G., López-Sánchez J.F., Sahuquillo A., Barahona E., Lachica M., Ure A.M., Davidson C.M., Gomez A., Lück D., Bacon J., Yli-Halla M., Muntau H. and Quevauviller Ph. (2000) Application of a modified BCR sequential extraction (three-step) procedure for the determination of extractable trace metal contents in a sewage sludge amended soil reference material (CRM 483), complemented by a three-year stability study of acetic acid and EDTA extractable metal content, *J. Environ. Monit.*, 2: 228-233
- Rauret, G (1998) Extraction procedures for the determination of heavy metals in contaminated soil and sediment, *Talanta*, 46: 449-455.
- René. Y., Prol. M.R., Siebe. C. (2004) Características geológicas y mineralógicas e historia de extracción del Distrito de Guanajuato, Mexico. Posibles escenarios geoquímicos para los residuos mineros, *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas.*, 21: 268-284

- René. Y., Siebe. C. (2006) Estrategia para identificar jales con potencial de riesgo ambiental en un distrito minero: estudio de caso en el Distrito de Guanajuato, Mexico., *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas.*, 23: 54-74
- René.Y., Siebe.C. (2007) Weathering of sulphide minerals and trace element speciation in tailings of various ages in the Guanajuato mining district, Mexico., *Science Direct.*, 71: 497-506.
- Romero. F.M., Armienta. M.A., Gutiérrez. M.E., Villaseñor. G. (2008) Factores geológicos y climáticos que determinan la peligrosidad y el impacto ambiental de jales mineros., *Contam. Ambient.* 24: 43-54.
- Salman S.R., Y.H. (1999) Multivariate and principal component statistical analysis of contamination in urban and agricultural soils from north Jordan, *Environ. Geol.*, 38: 265-270.
- Santos. E., Cruz. I. (2008) Sequential chemical speciation of mercury in contaminated sites of Mexico., National autonomous university of Mexico (UNAM) MC/4030-01-02 Project.
- Santos. J. E., Coria. J., Huerdo. J. J., Rodríguez. G. (2013) Influencia de jales mineros sobre el río Maconí, Queretaro, y evaluación del proceso de atenuación natural por dispersión., *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana.*, 65: 645-660.
- Sierra M., Martínez F.J., Aguilar J. (2007) Baselines for trace elements and evaluation of environmental risk in soils of Almería (SE Spain), *Geoderma* , 139: 209-219.
- Skoog D. A., Holler F. J., Nieman T. A. (2000) Principios de Análisis Instrumental, McGraw-Hill. 5ª Edición. ISBN 9788448127756.
- Smolinski A., Walzak B., Einax J.W. (2002) Hierarchical clustering extended with visual complements of environmental data set, *Chemometr. Intell. Lab. Syst.*, 64: 45-54.
- Tessier, A., Campbell, P. G. C., Bisson, M. (1979) Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals, *Anal. Chem.*, 51: 844–851.
- Tokalioğlu S., Kartal S., Elçi L. (2000) Determination of heavy metals and their speciation in lake sediments by flame atomic absorption spectrometry after a four-stage sequential extraction procedure, *Anal. Chim. Acta*, 413: 33-40.
- Ure A., Quevauviller Ph., Muntau H., Griepink B. (1993) Improvements in the determination of extractable contents of trace metals in soil and sediment prior to certification, Report EUR 14763 EN. Commission of the European Communities, Cat No. CD-NA-14763-EN-C.
- Ure A.M., Rauret G., López-Sánchez F.J., Sauquillo A., Rubio R., Davidson C.M, Quevauviller Ph., (1999).Improvement of the BCR three step sequential extraction procedure prior to the certification of new sediment and soil reference materials, *J. Environ. Monitor.*, 1: 57-61.
- Ure, A. M., Quevauviller, P., Muntau, H. and Griepink, B. (1993) Speciation of heavy metals in soils and sediments. An account of the improvement and harmonization of extraction techniques undertaken under the auspices of the BCR of the Commission of the European Communities, *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 51(1–4), 135–151.
- USEPA (1994) Method 3051. Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils and oils, U.S. Environmental Protection Agency, Washington DC. September 1994.
- Vandeginste B.G.M., Massart D.L., Buydens L.M.C., De Jong S., Lewi P-J., Smeyers-Verbeke J. (1998) Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part B. Elsevier. ISBN: 0444828532.