



---

**Universidad de Valladolid**

Facultad de Ciencias

**TRABAJO FIN DE MÁSTER**

**Máster en Técnicas Avanzadas en Química.**

**Control y Calidad de químicos.**

**Caracterización, contenidos y movilidad de elemento tóxicos en suelos de  
Zacatecas (México)**

***Autor: Víctor Lumbreras Pérez***

***Tutor: Rafael Pardo Almudí***



## RESUMEN

Este trabajo de Fin de Máster tiene como objetivo conseguir la caracterización y determinación de elementos tóxicos en muestras de suelo, que pertenecen a zonas no alteradas, es decir aquellas que no han sido utilizadas para actividades ganaderas, agrícolas o industriales. Todas ellas son procedentes del estado de Zacatecas, México. Los elementos tóxicos estudiados fueron los siguientes: Cr, Cd, Ni, Cu, Zn, As y Pb. Los análisis que se llevaron a cabo sobre las muestras fueron los siguientes:

Se caracterizaron por Difracción de Rayos X, con el objetivo de conocer las fases cristalinas mayoritarias de las muestras. Estudio que dio como resultado la existencia mayoritaria de estructuras de cuarzo. Tras ello se llevó a cabo la caracterización y determinación de los contenidos pseudototales por ICP-MS. Posteriormente, las muestras fueron sometidas al Fraccionamiento Químico B.C.R, basado en la extracción secuencial de las muestras de suelos con tres extractantes; ácido acético, hidroxilamina y peróxido de hidrógeno, que dan lugar a tres fracciones de movilidad y riesgo medioambiental decrecientes y a una cuarta, residual, obtenida por diferencia.

Los resultados, se estudiaron por medio de procedimientos multivariantes centrándose en el Análisis en Componentes Principales (ACP) y Análisis de Conglomerados (AC).



## **ABSTRACT**

The aim of this End of Master work is to characterise and determine toxic elements in soil samples, which belong to undisturbed zones, that is to say those that have not been used for livestock, agricultural or industrial activities. All of them are from the state of Zacatecas, Mexico. The toxic elements studied were the following: Cr, Cd, Ni, Cu, Zn, As and Pb. The analyzes that were carried out on the samples were the following:

They were characterized by X-ray diffraction, in order to know the majority crystalline phases of the samples. This Study resulted in the majority existence of quartz structures. After that, the characterization and determination of the pseudototal contents by ICP-MS was carried out. Subsequently, the samples were submitted to the BCR Chemical Fractionation, based on the sequential extraction of soil samples with three reagents; acetic acid, hydroxylamine and hydrogen peroxide, originating three fractions of diminishing mobility and environmental hazard, and a fourth one fund by difference.

The results were studied through multivariate procedures focusing on Principal Component Analysis (PCA) and Cluster Analysis (AC).



## ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN .....	9
1.1.	Metales pesados.....	9
1.2.	Problemática de la existencia de metales pesados en el medio ambiente .....	10
1.3.	Disponibilidad y movilidad de los metales pesados.....	11
1.4.	Fraccionamiento químico B.C.R. ....	12
1.5.	Técnicas analíticas .....	17
1.5.1.	Difracción de Rayos X .....	18
1.5.2.	Técnicas de ICP (ICP-MS) .....	19
1.6.	Técnicas quimiométricas multivariantes.....	22
1.6.1.	Análisis en componentes principales (ACP) .....	22
1.6.2.	Análisis de conglomerados.....	25
2.	OBJETIVOS .....	29
3.	MÉTODOS y MATERIALES .....	31
3.1.	Zona y procedimiento de muestreo .....	31
3.2.	Material y reactivos.....	31
3.3.	Caracterización cristalográfica de las muestras .....	32
3.3.1.	Procedimiento experimental.....	33
3.4.	Determinación de los contenidos pseudototales.....	34
3.4.1.	Procedimiento experimental.....	35
3.5.	Fraccionamiento químico (B.C.R.) .....	37
3.5.1.	Procedimiento experimental.....	37
3.6.	Determinación mediante espectrometría ICP-MS .....	42
3.5.	Herramientas informáticas.....	47
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	49
4.1.	Resultados experimentales .....	49
4.2.	Caracterización por difracción de rayos X.....	49
4.3.	Análisis estadístico univariante .....	51
4.3.1.	Contenidos Pseudototales.....	51
4.3.2.	<b>Contenidos del Fraccionamiento Químico (B.C.R.) .....</b>	<b>52</b>
4.4.	Análisis de Componentes Principales (ACP) .....	57
4.4.1.	Contenidos Pseudototales.....	57
4.4.2.	Fraccionamiento químico (B.C.R.) .....	62
4.5.	Análisis de conglomerados (AC) .....	69

4.5.1. Contenidos Pseudototales.....	69
4.5.2. Fraccionamiento químico (B.C.R.) .....	71
5. CONCLUSIONES .....	73
6. BIBLIOGRAFÍA .....	75
7. ANEXOS .....	81

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. Metales pesados

La definición que se entiende de metal pesado se conoce como aquella que hace referencia a cualquier elemento químico metálico que posea una densidad alta (superior a 4,5 g/cm<sup>3</sup>) y con carácter tóxico o venenoso, además de estar relacionado con efectos negativos cuando se encuentran a niveles bajos de concentración.

Los ejemplos más comunes de metales pesados son el Antimonio (Sb), Cadmio (Cd), Cobre (Cu), Cromo (Cr), Mercurio (Hg), Níquel (Ni), y Plomo (Pb). Aunque en este grupo nos encontramos también ciertos no-metales o metaloides, como pueden ser el Selenio (Se) o el Arsénico (As).

Y en base a esto, es donde la definición de metal pesado <sup>[1]</sup> se caracteriza por ser un término un poco confuso científicamente y no es aconsejado por la IUPAC. Con el paso del tiempo este término ha sido sustituido por el de “metales tóxicos”, aunque este término todavía no está aceptado por todo el colectivo científico <sup>[2]</sup> <sup>[3]</sup>, pero será el utilizado generalmente para referirse a todos los elementos presentes en dicho trabajo.

La mayoría de las veces, estos metales se encuentran a niveles de traza, estando en una baja concentración en la corteza terrestre, y principalmente en los suelos.

Los elementos traza pueden clasificarse en base a dos orígenes; geogénico y antropogénico.

Siendo los elementos de origen geogénico, aquellos que provienen de causas naturales como pueden ser la lixiviación de los suelos o las actividades volcánicas.

Mientras que los de origen antropogénicos se consideran aquellos que derivan de residuos clasificados como “peligrosos o perjudiciales” y son procedentes de actividades humanas, como pueden ser la minería, agricultura o industria <sup>[4]</sup>.

Como consecuencia de dichas actividades, el uso de suelos contaminados con metales pesados normalmente genera cultivos sin problemas, pero hay veces que pueden llegar a ser muy peligrosos para el consumo humano <sup>[5]</sup>.

## 1.2. Problemática de la existencia de metales pesados en el medio ambiente

La presencia de dichos metales tóxicos en el medio ambiente es una gran amenaza para el ser humano <sup>[6]</sup>.

El desarrollo de actividades antropogénicas ha permitido la generación de residuos potencialmente tóxicos, que a elevadas concentraciones pueden llegar a tener, tanto a largo como a corto plazo, efectos nocivos y perjudiciales sobre la salud humana además de producir ciertos desequilibrios ecológicos.

Esta peligrosidad de los metales pesados se debe al hecho de que no son química ni biológicamente degradables y una vez emitidos, pueden persistir en el ambiente durante varios años, dentro de un ciclo geoquímico en el que son capaces de circular entre diferentes compartimentos medioambientales y que se esquematiza en la Figura 1.

Dentro de estas actividades antropogénicas, se puede señalar como principal fuente de contaminación ambiental por metales pesados a los producidos por la minería y la industria, ya que ambas han provocado que estos metales se encuentren en cantidades y formas que la naturaleza no ha sido capaz de originar <sup>[7] [8] [9] [10]</sup> haciendo que se hayan contaminado grandes superficies de tierra o incluso agua con estos elementos, generando grandes problemas ya sea medioambientales o de salud pública, convirtiendo a este tipo de contaminación una de las más problemáticas a nivel mundial <sup>[11]</sup>. Aunque también nos encontramos otras actividades que contribuyen, como es el uso intensivo de fertilizantes <sup>[12]</sup> <sup>[13]</sup>, plaguicidas y de aguas residuales contaminadas en su uso en el riego de cultivos agrícolas.

Debido a todos los problemas medioambientales que representan estos elementos tóxicos, por ser sustancias persistentes y no biodegradables, surge la necesidad de tener determinado y controlado el nivel de contaminación de los suelos, ya que estos elementos son capaces de difundirse a diferentes medios a parte del suelo, como puede ser al aire mediante la volatilización de éstos, como su paso a las aguas subterráneas por medio su solubilización, o incluso de forma indirecta mediante su paso a otros organismos, como son las plantas u otros animales que hayan estado expuestos a contaminación de forma previa.

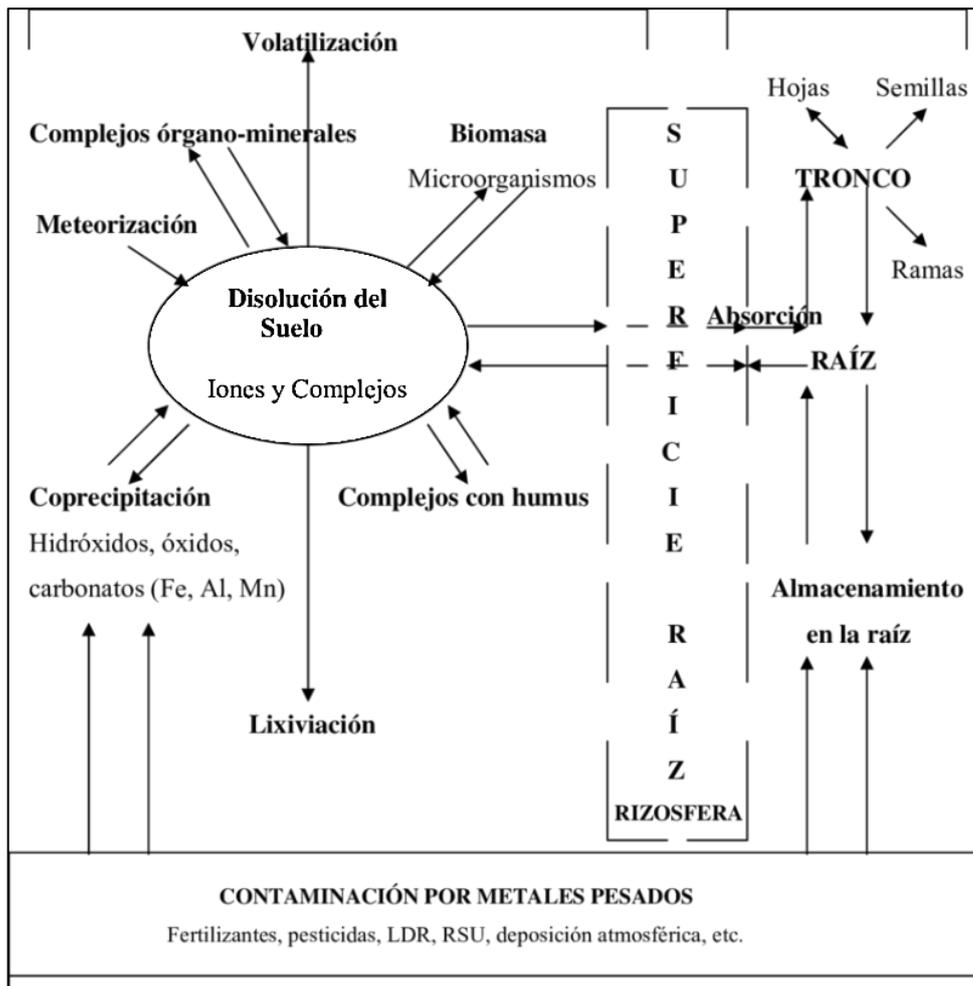


Figura 1.- Ciclo geoquímico de los metales pesados en suelos.

En países desarrollados se han establecido valores de referencia <sup>[14]</sup> permitidos para cada uno de estos metales tóxicos, que permitan una buena planificación y una gestión ambiental del suelo, pasando a ser una herramienta de control de las entidades ambientales y permitan así evaluar los impactos.

Teniendo en cuenta que dependiendo de sus características fisicoquímicas, para cada metal se tendrán unos valores de referencia según su diferente disponibilidad o impacto producido en el medio ambiente <sup>[15]</sup>.

### 1.3. Disponibilidad y movilidad de los metales pesados

Para determinar la concentración de los metales pesados en los diferentes sectores medioambientales se tiene que diferenciar entre lo que se entiende por concentración total, la cual corresponde a todo el elemento presente en la muestra y lo que se entiende por

concentración movilizable, que es la realmente peligrosa, ya que es la que circula por el ciclo biogeoquímico global, mencionado anteriormente.

En cuanto a las técnicas empleadas para determinar la concentración total se suele determinar mediante técnicas analíticas de *Fluorescencia de Rayos X* (FRX) o la *Activación Neutrónica* (AN) <sup>[16]</sup>, que no precisan de un pretratamiento de las muestras, o por técnicas espectrofotométricas, como son la *Absorción Atómica*, la *Emisión de Llama*, la *Emisión de Plasma*, etc., en donde si es necesario tratar la muestra, realizando una mineralización total, para ponerla en disolución.

En el ámbito medioambiental, generalmente resulta de mayor interés estudiar las concentraciones '*pseudo-totales*', debido a que representan el contenido máximo disponible en un periodo a largo plazo <sup>[17]</sup> o cuando existen unas condiciones medioambientales extremas.

Estos se determinan tras llevar a cabo tratamiento químico previo a la muestra, siendo habitualmente el uso de ácidos concentrados y altas temperaturas.

#### **1.4. Fraccionamiento químico B.C.R.**

Acabamos de definir a los contenidos *pseudo-totales* como aquellos que muestran el máximo riesgo en una muestra sólida medioambiental en un largo periodo de tiempo, pero los metales pesados o tóxicos que se localizan en suelos y sedimentos pueden existir en diferentes formas químicas y/o asociaciones (*binding*) con diferente toxicidad y movilidad <sup>[18]</sup>.

Por un lado, se denomina especiación (*speciation*) a la "determinación" de las diferentes formas físico-químicas de un elemento, muy apropiado si las muestras son acuosas, mientras que para muestras sólidas el problema es más complicado, pues además de las diferentes formas químicas en las que un elemento puede estar presente y que tienen distinto comportamiento en términos de toxicidad y movilidad <sup>[19]</sup>, véase el arsénico, está la de su asociación concreta con la fase sólida <sup>[20]</sup>. Por lo que se prefieren los términos de extracción/lixiviación o fraccionamiento químico, antes que el de especiación si se habla de muestras sólidas. Se emplea este término debido a que la toxicidad y movilidad de los elementos en muestras sólidas dependen de la especie química concreta y de la forma de

asociarse al sólido, pudiendo ser a través de una absorción superficial, presente en minerales primarios o secundarios, complejoado por ligandos orgánicos, etc <sup>[20]</sup>.

Por tanto, se puede originar una removilización del metal tóxico desde la fase sólida y favorecer la contaminación de las aguas cercanas si existen cambios en las condiciones medioambientales, ya sea una alteración del pH, potencial redox o la presencia de ligandos orgánicos. Por lo tanto, una identificación correcta de la forma de asociación facilitará entender los procesos geoquímicos subyacentes y como consecuencia de ello, el poder calificar el potencial de removilización y el riesgo medioambiental de estos elementos.

La extracción/lixiviación se lleva a cabo al tratar la muestra medioambiental sólida con una disolución extractante de uno o varios reactivos químicos. Este tratamiento puede hacerse en un único (*single extraction procedures*) o en varios pasos (*sequential extraction procedures*). Siendo el tratamiento en un único paso extractante el que presenta una gran ventaja al poder seleccionar uno que permita centrarse en extraer una determinada especie, fase o forma de asociación con el sólido.

Entre las fases y fracciones <sup>[17]</sup> reconocidas están las siguientes:

- ***Fracción intercambiable adsorbida inespecíficamente.*** Relacionada con 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 adyacente.
- ***Fracción intercambiable adsorbida específicamente.*** Incluye elementos ligados por fuerzas covalentes que no pueden ser desplazados por  $K^+$  o  $Ca^{2+}$ , mientras que sí lo son por  $Pb^{2+}$  o  $Cu^{2+}$ , que se emplean para su determinación.
- ***Fracción complejada orgánicamente.*** Que como su nombre indica, incluye metales procedentes de procesos de complejamiento/bioacumulación. Su determinación se efectúa por oxidación de los complejantes a través de dos pasos; un primero, en el uso de peróxido de hidrógeno y un segundo paso con acetato amónico, implicando que también se determinan metales ligados a fases sulfuradas. En la naturaleza, este

proceso se lleva a cabo aumentando el potencial redox, por medio de la oxidación natural o por degradación bacteriana.

- ***Fase carbonatada (fracción asociada a carbonatos)***. Se considera una fase muy sensible a los cambios ambientales naturales que impliquen un 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 permiten conformar uno de los sumideros más habituales en la acumulación de 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.

A pesar de que la utilización de extractantes en una única etapa, presenta en principio la ventaja de que se puede liberar una fase o fracción específica. Sin embargo, esto no es rigurosamente correcto <sup>[17]</sup> ya que un extractante elegido se encarga de movilizar mayoritariamente una fase, pero simultáneamente puede ser capaz de liberar fracciones o fases retenidas con menos fuerza. Este tipo de extracciones/lixivitaciones con un único extractante se usan en muchos casos en investigaciones de tipo más agroquímico, en los que se puede comparar el contenido lixiviado con otros parámetros propios de los vegetales que se estudian.

La siguiente tabla presenta un resumen de las fases y los reactivos más utilizados, mencionados anteriormente <sup>[21]</sup>.

**Tabla 1.- Resumen de fracciones y reactivos**

<b>Fracción</b>	<b>Reactivo y concentración</b>
Fracciones intercambiables	- KNO <sub>3</sub> 0,1 mol /L - MgCl <sub>2</sub> 1 mol /L - CaCl <sub>2</sub> 0,05 mol /L - Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 0,1 mol /L - NH <sub>4</sub> AcO 1 mol/L a pH 7
Asociada a carbonatos	- HAcO 0,5 mol /L - HAcO: NaAcO 1 mol /L a pH 5
Asociada a óxidos hidratados de hierro y manganeso	- NH <sub>2</sub> OH, HCl 0,04 mol /L en medio acético o nítrico - Oxalato amónico - Ditionito Sódico + Citrato sódico + Bicarbonato sódico (DCB)
Complejada orgánicamente	- H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> - NaClO

Se puede mejorar la información que se obtiene de la extracción/lixiviación usando combinación correcta de reactivos apropiados a las diferentes fases o fracciones.

En resumen, se entiende el fraccionamiento químico, como un esquema secuencial de extracción/lixiviación, en el cual el residuo de la primera extracción es empleado como material de partida para la segunda y así de forma sucesiva para el resto de las fracciones.

Para establecer un orden de aplicación de los diferentes reactivos, tiene que tenerse presente su agresividad o reactividad química, de forma que se elige aquella forma en la que ésta se vaya aumentando, liberándose así en primer lugar los metales asociados a las fases o fracciones menos retenidas y los cuales presentan un mayor riesgo medioambiental por su mayor disponibilidad. Por ende, según se avanza el proceso de fraccionamiento, los metales que son lixiviados presentan una menor disponibilidad y una menor peligrosidad, hasta llegar a fracciones que contienen metales prácticamente inmovilizables <sup>[17]</sup> <sup>[21]</sup>.

Con el fin de enfocar el problema de la extracción de elementos traza en suelos y sedimentos, el *Bureau Communautaire de Référence* (B.C.R.), denominado actualmente *Standards, Measurements and Testing Program* (S.M.T.P.) de la Unión Europea, abordó en 1987 una serie de programas de estudio para la armonización conjunta de los procedimientos de extracción de forma única o secuencial de metales tóxicos en suelos y en sedimentos.

En el año 1992, en el transcurso de una reunión celebrada en Sitges (Barcelona) un grupo de expertos propuso un procedimiento de extracción secuencial que incluye tres pasos empleando por tanto tres reactivos <sup>[22]</sup> siendo éstos los siguientes:

- (a) ácido acético
- (b) clorhidrato de hidroxilamina
- (c) peróxido de hidrógeno

El empleo de estos tres reactivos genera la formación de 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
- (c) asociados a Materia Orgánica y sulfuros

También se encarga de dar una serie de recomendaciones prácticas sobre los reactivos, matrices analíticas y los posibles problemas posteriores a la extracción <sup>[23]</sup> <sup>[24]</sup>.

Al procedimiento inicial <sup>[21]</sup> se le modificaron algunos aspectos hasta lograr su forma final desarrollada por Ure <sup>[25]</sup> y Rauret <sup>[26]</sup>. Éste tiene ciertas modificaciones con respecto al desarrollado en un principio, las cuales se centran en el tratamiento de la Fracción 2.

A continuación, se muestra detallada una tabla del procedimiento B.C.R. de su forma actual, el cual se trata de una adaptación de Mossop and Davidson <sup>[27]</sup> los cuales llevaron a cabo un estudio comparando ambas versiones del procedimiento.

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

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

También existe una fracción, denominada “Residual”, que no se incluye en el procedimiento B.C.R., ésta se puede obtener tratando el residuo procedente de la obtención de la Fracción 3 con agua regia <sup>[25]</sup> o bien mediante una diferencia que se obtiene de la resta del sumatorio de las fracciones 1, 2 y 3 del contenido pseudo-total que se obtiene al tratar la muestra de forma independiente.

El Fraccionamiento B.C.R. es el procedimiento que se está usando estos últimos años debido a la capacidad que tiene de ser aplicado en diferentes matrices medioambientales tales como los suelos <sup>[27] [28] [29] [30]</sup>, sedimentos <sup>[31]</sup>; residuos urbanos e industriales <sup>[32] [33]</sup>, suelos vegetales <sup>[34]</sup>.

### **1.5. Técnicas analíticas**

Para poder obtener información sobre el contenido total en metales que presentan los sedimentos de suelos que se estudiaron en este trabajo, éstos fueron sometidos a un análisis por técnicas basadas en el uso de rayos X.

Se utilizó la difracción de rayos X <sup>[35]</sup>, para conocer las fases cristalinas más presentes en los sedimentos, aunque también se puede aplicar la fluorescencia de rayos X <sup>[36]</sup>.

### 1.5.1. Difracción de Rayos X

Actualmente, se trata de una técnica espectroscópica de caracterización muy utilizada, debido a que con ella se permite conocer la estructura cristalina de una muestra geológica, mediante la medición del espaciado atómico de la muestra.

La técnica se basa en el estudio de la radiación reflejada que se produce al hacer incidir un haz monocromático de rayos x sobre la muestra cristalina.

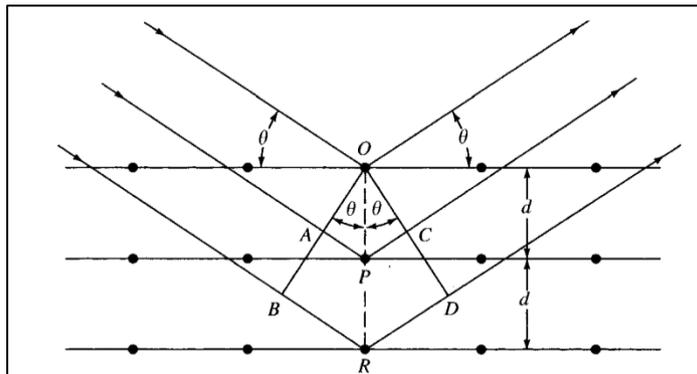


Figura 2.- Difracción de Rayos X producida por un cristal

Cada red cristalina presenta infinitos planos paralelos entre sí y separados una distancia  $d$ . Cuando incide el haz de rayos x entre dos de estos planos, el frente de ondas es difractado por el primer plano con un ángulo determinado, e idéntico al difractado por el segundo plano y cuando ambos frentes de onda están en fase, el haz de rayos x difractado puede ser detectado.

Esto ocurre cuando la diferencia de recorrido de los frentes es múltiplo de la longitud de onda, condición que viene expresada por la ley de Bragg:

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

siendo:

- $d$  la distancia entre los planos de la red cristalina
- $n$  un número entero
- $\lambda$  la longitud de onda del haz emitido
- $\theta$  el ángulo que forma el haz incidente y el reflejado

A través de la ley de Bragg, se puede obtener la distancia entre los planos de la red cristalina, que se pueden comparar con las que se encuentran en las bases de datos.

El software del equipo se encarga de asignar las distancias obtenidas a fases cristalinas, dando como resultado la identificación de los compuestos de la muestra y en función de la intensidad de la señal detectada, su concentración de forma aproximada.

### 1.5.2. Técnicas de ICP (ICP-MS)

Una vez tratados los contenidos Pseudototales para su caracterización y separadas las tres fracciones diferentes o extractos procedentes del Fraccionamiento BCR, se pasó a determinar los contenidos de los metales tóxicos mediante la correspondiente técnica.

En nuestro caso, se ha utilizado ICP-MS, para determinar los contenidos pseudototales y para determinar los contenidos de metales del fraccionamiento químico. A continuación, se describe brevemente el fundamento de la técnica [37].

Tanto ICP-MS como ICP-OES, se vienen utilizando de forma rutinaria en la determinación de metales tóxicos en muestras medioambientales incluyendo estudios de fraccionamiento químico [30] [32] [38] [39] [40] [41] [42].

El ICP-MS es una técnica muy utilizada actualmente debido a las grandes ventajas que ofrece. El fundamento de esta técnica es muy semejante al ICP-OES, siendo el sistema de detección la única diferencia apreciable que se encuentra entre ambas técnicas, ya que en ICP-MS se detectan iones usando como detector un espectrómetro de masas, y no radiación como en ICP-OES.

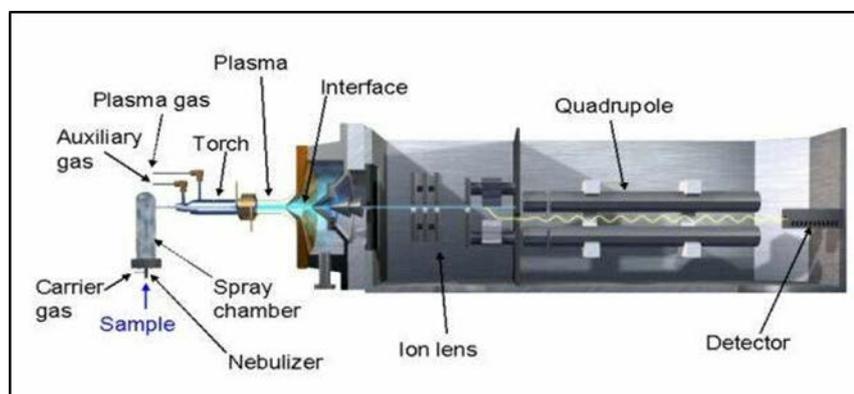


Figura 3.- Esquema de la técnica de ICP-MS.

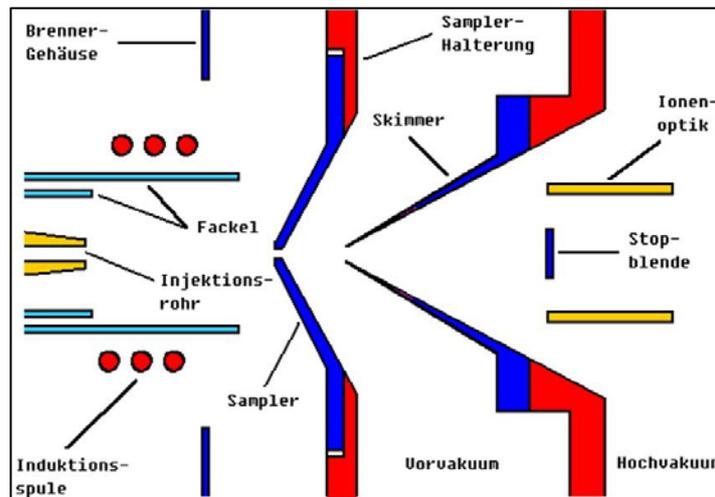
La muestra líquida se introduce y el nebulizador se encarga de formar un aerosol. Una bomba peristáltica permite succionar la muestra líquida, que es llevada hasta el nebulizador, donde la disolución se transforma en un aerosol (muy finas gotas de disolución) y es arrastrada hasta la antorcha para favorecer a continuación la formación del plasma, que es una mezcla gaseosa (Ar) y conductora de la electricidad que contiene una concentración significativa de cationes y electrones, que de forma neta tiene una carga neutra.

Como la temperatura necesaria es del orden de 9.000 K, la energía requerida se aporta mediante una bobina conductora que genera radiofrecuencias, que hacen que el Argon pase a un estado de plasma, junto con los componentes de la muestra.

Como ya hemos mencionado, la antorcha es la fuente de plasma, y consistente en tres tubos concéntricos de cuarzo por los que fluyen corrientes de Argon (5-20 L/min). Rodeando la parte superior del tubo externo se encuentra una bobina de inducción alimentada por un generador de radiofrecuencia.

Una chispa, es la encargada de generar la ionización del argón el cual fluye por el tubo interior; los iones y electrones formados en ese momento interaccionan con el campo magnético producido por la bobina de inducción tomando una trayectoria circular. La elevada temperatura a la que se encuentra el plasma hace necesario el aislamiento térmico del cilindro exterior, mediante el uso de Argon de forma tangencial alrededor del tubo.

La parte crítica del equipo de ICP-MS es la interfase, en la cual se acopla la antorcha del ICP que sirve como atomizador e ionizador y trabaja a presión atmosférica, con el espectrómetro de masas que trabaja a vacío. El acoplamiento se consigue con el cono de muestro, el cual permite al plasma pasar a una región con menor presión, en la que el plasma sufre una expansión rápida produciendo su enfriamiento. A continuación, se hace pasar una fracción del plasma a un segundo cono llamado *skimmer* o cono separador, el cual se lleva a una cámara que se encuentra a la presión del espectrómetro de masas (Figura 4).



**Figura 4.- Esquema de los conos de la interfase.**

En este punto es dónde se separan los cationes de los electrones y de las especies moleculares mediante un potencial negativo y posteriormente son enfocados y acelerados por diferentes lentes magnéticas hacia el orificio de entrada del analizador de masas cuadrupolar, el cual está formado por cuatro barras de forma cilíndrica y paralelas conectadas eléctricamente y de forma opuesta, dos a dos, al polo positivo y al negativo de una fuente de corriente continua y actúa como electrodo consiguiendo que los iones alcancen el detector según su relación masa/ carga ( $m/z$ ).

En ocasiones, tras formarse el plasma, este pasa a una cámara de reacción/colisión dónde se eliminan las especies formadas que puedan actuar de interferencias.

Esta técnica se ha convertido en una de las más importantes para el análisis elemental, debido a que cuenta con unos límites de detección bajos, un alto grado de selectividad, además de una buena exactitud y precisión.

Permite el análisis tanto cualitativo como cuantitativo, a través de la valoración de la relación  $m/z$  y por la intensidad de pico, además de permitir obtener espectros para la mayoría de los elementos sin necesidad de cambiar las condiciones.

Una ventaja que tiene esta técnica es que consiguen separar iones con una unidad de relación  $m/z$  de diferencia.

Otra ventaja, se encuentra en el análisis de los resultados, ya que los espectros de masas obtenidos son mucho más sencillos de interpretar que los que nos ofrece el ICP-OES.

Además de que, gracias a las elevadas temperaturas alcanzadas en el plasma, permite que las interferencias entre elementos sean menores, haciendo de ella una técnica en la que se pueden analizar simultáneamente diferentes elementos.

Mientras que uno de los principales problemas de esta técnica está en la presencia de interferencias isobáricas y de fondo por especies poliatómicas, la coincidencia de dos picos en la misma masa provocados al producirse combinaciones entre los distintos átomos presentes en el plasma con la misma masa que algún otro elemento.

## **1.6. Técnicas quimiométricas multivariantes**

En este trabajo, se han utilizado dos de los procedimientos más habituales en cuanto a las técnicas quimiométricas <sup>[44]</sup> <sup>[45]</sup> <sup>[46]</sup> existentes actuales; como son el *Análisis en Componentes Principales* (ACP) y el *Análisis Clúster o de Conglomerados* (AC) para la extracción de información de los datos obtenidos experimentalmente.

En este caso, los datos son de naturaleza multivariante, pues se determinan distintas variables (metales o elementos) sobre diferentes objetos (sedimentos o fracciones), y da lugar a que los datos se puedan presentar en forma de matriz bidimensional, que nos permiten visualizar de forma sencilla información que en principio no es asequible a primera vista en una tabla de datos.

### **1.6.1. Análisis en componentes principales (ACP)**

Se trata de uno de los procedimientos más utilizados para reducir la dimensionalidad de una tabla de datos, ya sean estos procedentes de una técnica analítica multivariante o de la combinación de una serie de análisis independientes llevados a cabo sobre muestras relacionadas. En estos casos, la información puede ponerse en forma de matriz, en donde 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  $(n \times p)$ .

En nuestro caso los objetos serán las diferentes muestras de suelos estudiados y las variables son los elementos analizados en cada una de las muestras.

**Tabla 3.- Análisis de los componentes principales (ACP).**

Objeto	Variable			
	1	2	.....	p
1	X <sub>11</sub>	X <sub>12</sub>	.....	X <sub>1p</sub>
2	X <sub>21</sub>	X <sub>22</sub>	.....	X <sub>2p</sub>
.....			.....	
n	X <sub>n1</sub>	X <sub>n2</sub>	.....	X <sub>np</sub>

Como ya se ha mencionado, el objetivo del ACP es reducir la dimensionalidad de la matriz **X** de forma que, al disminuir el número de variables, hasta un valor  $F < p$ , la visualización de la información se proporcione de forma más sencilla a simple vista. Para ello, se parte de la hipótesis de que no todas las  $p$  variables originales medidas contienen información relevante y 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:

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

En esa ecuación, tenemos que  $F$  es el número de factores o componentes ortogonales significativos del modelo, el cual debe ser tan pequeño como sea posible (2 ó 3), mientras que  $u_{if}$  son las puntuaciones (o *scores*), es decir los valores que toma para cada objeto cada una de las  $F$  nuevas variables. También  $b_{fj}$ , que define las cargas (o *loadings*) que muestran cómo participa cada una de las variables originales en las  $F$  nuevas variables, y  $e_{ij}$  como el error (cantidad de información no explicada por el modelo). Los  $u_{if}$  se agrupan en una matriz **U** ( $n \times F$ ) o matriz de scores, y los  $b_{fj}$  en una matriz **B** ( $p \times F$ ), por lo que el modelo en forma matricial es  $\mathbf{X} = \mathbf{U} \mathbf{B}$ , donde  $F$  es un número lo más pequeño posible e inferior al número  $p$  de variables originales. La Figura 5, se encarga de ilustrar el esquema del procedimiento.

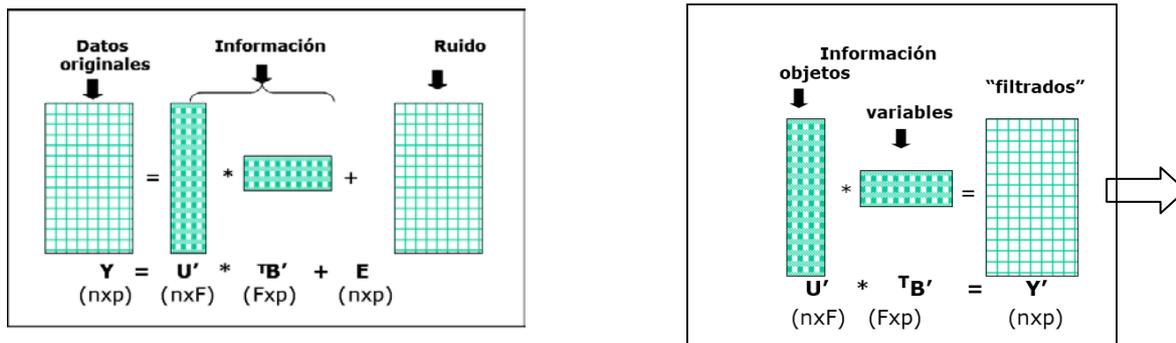


Figura 5.- Explicación esquemática del ACP.

La representación gráfica de las cargas  $b_{fj}$  permite encontrar similitudes de comportamiento entre las variables originales, mientras que la de las puntuaciones,  $u_{if}$ , permite hacer lo mismo para los objetos. En ambos casos, esas similitudes son más difíciles de apreciar si se buscan en la matriz de datos original.

Los resultados que se obtienen del análisis en componente de principales (A.C.P.) se presentan mediante una serie de gráficos.

El primero de ellos se denomina gráfico de sedimentación (*gráfico de Scree*) en el que se representa la importancia de manera decreciente de cada una de las nuevas variables en la descripción de la información contenida en la tabla  $X$ . Ese gráfico permite elegir los  $F$  componentes más significativos y que explican por tanto una mayor cantidad de la información original. También encontramos los gráficos de cargas o *loadings* que presentan los valores  $b_{fj}$  para cada componente  $F$  y muestran 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. puede hacerse visualizando de forma independiente o conjuntamente, los gráficos de cargas y puntuaciones. De forma general se puede considerar que las variables originales que aparezcan cercanas entre sí en el gráfico de cargas estarán muy relacionadas entre sí. Y de la misma forma, aquellos objetos que aparezcan cercanos entre sí en el gráfico de puntuaciones se comportarán de forma similar y se parecerán entre ellos. Mientras que, aquellas variables u objetos que aparezcan separadas en dichos gráficos se parecerán muy poco entre sí. Generalmente, y con el fin de facilitar la interpretación, se representan solo los 2 o 3 primeros componentes o factores, con los cuales se llega a

explicar una cantidad significativamente importante de información. Se pueden representar de forma conjunta las cargas y las puntuaciones, en lo que se denominan gráficos bivariados, con los que se puede llegar a 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 quitando ciertas 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 anula la condición de ortogonalidad mencionada anteriormente con el fin de encontrar factores más “limpios”, aunque esto suele complicar la interpretación ya que se aumenta el número de factores o componentes significativos.

El A.C.P. se trata de una herramienta con gran aplicación en aquellos campos científicos como el medioambiental, en que se conocen una gran cantidad de parámetros químicos correspondientes a muchas muestras <sup>[47] [48] [49] [50] [51] [52]</sup> o a estudios de fraccionamiento químicos <sup>[32] [38] [39]</sup>.

### **1.6.2. Análisis de conglomerados**

El análisis de conglomerados, también conocido como *clústeres* (AC) es una técnica multivariante que se encarga de agrupar a los elementos en clases, con el objetivo de lograr una homogeneidad máxima en cada grupo y una mayor diferencia entre los grupos, independientemente si se estudian muestras o de variables. Se utiliza como una técnica exploratoria, descriptiva pero no explicativa. Su salida gráfica se conoce como dendrograma y permite visualizar de manera fácil e intuitiva las relaciones existentes entre los objetos (*sedimentos o fracciones*) o variables (*elementos o metales*) de la matriz de datos original.

La distancia, es el concepto en el que se basan las relaciones entre objetos o variables, bajo el supuesto de que cuanto menor es la distancia entre dos objetos o variables, más parecido será el comportamiento de los mismos. Hay que tener en cuenta que existen diferentes tipos de distancias. La distancia euclídea se encarga de cuantificar la distancia entre objetos, con la siguiente ecuación:

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

(Departamento de Química Analítica, 2013)

Para cuantificar las variables, la distancia se expresa en función del coeficiente de correlación; en donde dos variables que se comporten de forma parecida estarán correlacionadas positivamente. 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 el dendrograma el cual es un diagrama en forma de árbol, en el cual los objetos y variables se muestran en función de su distancia y de su similitud.

La cantidad de información que se representa en un dendrograma de A.C. es siempre del 100%. Existen diversos métodos (*linkage methods*) para construir los dendrogramas, la elección de uno de ellos se basa en conseguir que produzca los resultados más fáciles de interpretar, siendo generalmente el *método de Ward*, ya que este, se encarga de minimizar la distancia entre objetos y variables similares y maximizar la distancia entre objetos y variables diferentes. Estos métodos [52] [53], se emplean de forma rutinaria en multitud de áreas.

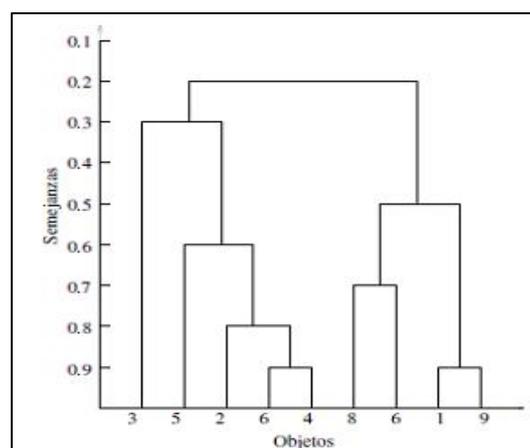


Figura 6.- Ejemplo de un dendrograma.

Existe una diferencia entre ambos procedimientos explicados, ya que el ACP trata de buscar un modelo matemático para explicar los datos, en cambio el AC se limita a agruparlos en función de su parecido. Y a pesar de esto, los resultados del AC son complementarios de los del ACP y se suelen interpretar de manera conjunta. Ambas técnicas de análisis quimiométricas, se han aplicado en este trabajo a todas las variables determinadas en las muestras de suelos.



## 2. OBJETIVOS

Este trabajo de fin de máster se desarrolla con la finalidad de determinar las concentraciones movilizables de los metales pesados en este caso de As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn además de su caracterización en el mismo y aportar información acerca del contenido y distribución de los mismos en muestras de suelo y poder contribuir con un dictamen medioambiental del mismo.

La procedencia de las muestras del estudio se encuentra en Zacatecas (México) de una zona sin contaminación industrial y que no han sido expuestos a actividades ganaderas o agrícolas.

Los objetivos específicos son los siguientes:

- Caracterizar de forma cristalográfica las muestras de distintas zonas mediante el uso de la técnica de Difracción de Rayos X de acuerdo a sus fases cristalinas.
- Determinar los contenidos pseudototales mediante la aplicación de la norma EPA-3051A.
- Evaluar la peligrosidad medioambiental de los suelos mediante comparación con los límites establecidos por la legislación mexicana.
- Realizar la caracterización de los elementos por fraccionamiento químico B.C.R., basado en la extracción secuencial de 3 fracciones de movilidad y de peligrosidad medioambiental decreciente, como forma de evaluar la movilidad de los elementos y su posterior análisis por ICP-MS.
- Estudiar los resultados obtenidos tanto de los contenidos pseudototales como de las diferentes fracciones generadas a través de procedimientos quimiométricos univariantes.
- Tratar de encontrar diferencias y similitudes de comportamiento, tanto entre las muestras como entre los elementos, gracias a aplicar técnicas quimiométricas multivariantes, como son el análisis en componentes principales y el análisis de conglomerados.



### 3. MÉTODOS y MATERIALES

#### 3.1. Zona y procedimiento de muestreo

Las muestras utilizadas para llevar a cabo el estudio plasmado en este trabajo provienen del estado de Zacatecas una región de México.



Figura 7.- Mapa de la región de Zacatecas estudiada en este trabajo

#### 3.2. Material y reactivos

- *Material de laboratorio:* espátula de aluminio, frasco lavador con agua desionizada, jeringas, tubos de centrifuga, filtros de 0,45  $\mu\text{m}$ , frascos de polietileno, pipetas, matraces aforados, vasos de precipitados, embudos cónicos, varillas, cuentagotas, porta muestras, etc.
- *Reactivos:* HCl 37% calidad P.A. Scharlau, HNO<sub>3</sub> 65 % P.A. Scharlau. HAcO glacial  $\geq 99.8$  % pureza P.A. Sigma-Aldrich. Clorhidrato de Hidroxilamina (NH<sub>2</sub>OH·HCl). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% P.A. NH<sub>3</sub> 30% P.A. Agua de calidad MILIQ. Material de referencia certificado *Lot No. D054-540* para la determinación de contenidos pseudototales y *MRC 601* usado en el fraccionamiento químico B.C.R.
- *Equipos:* balanza analítica, campana extractora, vibromatic, centrifuga, baño de agua.

### 3.3. Caracterización cristalográfica de las muestras

La caracterización de las muestras se realiza mediante la técnica de difracción de rayos X descrita en el apartado 1.5.1.

Para realizar el análisis es necesario que las muestras sean totalmente homogéneas, por lo tanto, nuestras muestras requieren de un tratamiento previo de molienda por ser muestras sólidas de diferentes tamaños.

El procedimiento se puede llevar a cabo a través de dos técnicas, la primera se trata de un procedimiento manual en el cual se coloca la muestra en un mortero de ágata y tras ello se aplica presión y se remueve la muestra hasta que se considera que está lo suficientemente fina y homogénea. O mediante la utilización de un molino de disco. Siendo este segundo método el elegido para tratar nuestras muestras.

Este está formado por una serie de discos concéntricos de tamaño creciente compuestos de carburo de tungsteno, siendo este un material que proporciona gran dureza los discos. Se introduce la muestra entre los discos, se cierra, y se coloca en el plato vibratorio a través de un gancho a presión, para provocar la rotación de los discos y así generar múltiples colisiones y conseguir así la correspondiente molienda y homogeneización de la muestra. Con este método se puede llegar a obtener granos de hasta 20 $\mu$ m.

El equipo utilizado fue un molino de discos vibratorios RETSCH ubicado en el LTI de la UVA.



**Figura 8.- Molino de discos vibratorios RETSCH**

La molienda de la muestra suele durar 30 segundos a una velocidad de 1200 rpm. Cuando esta finaliza, se trasvasa a un vidrio de reloj y se introduce a la estufa durante dos horas para

eliminar la mayor parte de la humedad. Una vez acondicionada la muestra, ya está lista para ser analizada en el equipo de difracción de Rayos X.

La muestra molida se lleva al porta asegurándose de que la superficie quede plana. Para ello se toma 1 g de la muestra molida y se coloca en el portamuestras, se retira el sobrante y se aplana la superficie con un instrumento plano y una vez realizada la operación se introduce al equipo.

La difracción de rayos X no requiere tratamiento previo de muestra más allá de la molienda y homogeneización.

### **3.3.1. Procedimiento experimental**

El equipo utilizado para la caracterización de las muestras por difracción fue un DRX BRUKER D8 DISCOVER, el cual se encuentra en el LTI de la Uva. Presenta un tubo de rayos X refrigerado mediante agua consistente en un tubo cerámico de Cu, este ánodo trabaja a una potencia de 2.2 Kw, proporcionando un haz de 1,54 Å. Dicho haz presenta tres componentes principales, h1, h2 y  $\beta$ . El h1 y h2 no pueden ser separadas, pero no interfieren entre sí, por lo que el haz no es monocromático; en cambio  $\beta$  si puede separarse de las otras dos mediante unos filtros de Ni, conocidos como *filtros anti-scattering*. A la salida del haz presenta una ventana de vidrio. Los parámetros que se aplicaron al equipo para operar fueron los siguientes:

#### *Tubo catódico de Cu*

- Voltaje: 40 kV
- Intensidad de corriente: 30 mA

#### *Barrido de ángulos $2\theta$*

- Intervalo de medida: desde 5° a 70°
- Tamaño de paso entre medidas: 0.02°
- Tiempo por paso: 0.5 s
- Pasos totales: 31

Con un tiempo total de medida en 28 min aproximadamente.

### 3.4. Determinación de los contenidos pseudototales

Se realizó una digestión ácida de las muestras en un horno microondas siguiendo el procedimiento descrito de la norma EPA-3051A, para realizar el posterior análisis mediante ICP-MS.

Una de las ventajas de este método es su aplicabilidad a la extracción de sedimentos, lodos, suelos y aceites de una larga serie de elementos. Considerándose por ello un método de extracción multielemental rápido que permite la extracción total en suelos y sedimentos. Además de permitir la utilización de ácido clorhídrico que logra una mejor extracción de ciertos analitos como Sb, Fe, Al y Ag debido a que consigue su estabilización.

La digestión realizada mediante este procedimiento puede analizarse posteriormente por varias técnicas analíticas, como el uso de la absorción atómica de llama, mediante espectroscopía de emisión atómica de plasma inductivo acoplado o espectroscopia de masas con plasma inducido acoplado; aunque la utilización de ácido clorhídrico puede afectar al límite de cuantificación o generar interferencias según la técnica de análisis empleada.

El procedimiento de digestión consiste en llevar a las muestras a altas temperaturas en un medio ácido oxidante que permita descomponer la matriz, liberando los analitos de interés. De forma que estos además se ven solubilizados, pudiendo obtener una fracción movilizable de los metales de interés medioambiental.

La matriz de trabajo, en este caso, es una matriz simple que puede ser digerida con medios ácidos fuertes, en caso de ser más compleja se requieren condiciones de temperatura más alta y por tanto ácidos o mezclas de ácidos que aumenten la temperatura de ebullición.

La utilización del microondas se basa en las interacciones entre las microondas y las partículas presentes que provocan la rotación de dipolos y el correspondiente aumento de temperatura, generando que el proceso se acelere. La ventaja más característica de este procedimiento reside en el control de la presión y temperatura, así como reducir los tiempos de digestión. Una característica del equipo empleado es que introduce la agitación mediante el movimiento semi-rotatorio del carrusel.

Los ácidos empleados, descritos en el apartado de los reactivos, deben ser de calidad P.A. para evitar la contaminación de la muestra ya que estos presentan concentraciones mínimas en metales.



**Figura 9.- Horno microondas ETHOS PLUS MILESTONE**

El Horno microondas ETHOS PLUS MILESTONE se encuentra en el departamento de química analítica de la facultad de ciencias. Combina el calentamiento por radiación microondas y la agitación de la muestra mediante semi-rotación.

Está compuesto por:

- 6 tubos digestores de teflón (TFM) con sus correspondientes tapas, encamisados (HTC), aros de sujeción, placas adaptadoras.
- Termopar para control de temperatura. *(Se introduce por la tapa del tubo de control)*
- Rotor segmentado de media presión MPR-600/12S.
- Rotor segmentado HPR-1000/10S de alta presión.
- Carrusel con 6 posiciones.
- Llave dinamométrica calibrada y adaptador de llave dinamométrica.

### **3.4.1. Procedimiento experimental**

Se pesan 0,25 g de muestra directamente en los tubos digestores usando una balanza analítica para anotar el peso exacto utilizado. A continuación, en campana extractora se adicionan los ácidos; 4,5 ml de HNO<sub>3</sub> del 65% y 1,5 ml de HCl del 37%, ambos de calidad P.A. La adicción se realiza por las paredes del tubo digestor procurando arrastrar la mayor parte

de la muestra que haya podido quedar por las paredes, aunque estos restos se verán igualmente digeridos gracias a los vapores durante la digestión. Una vez añadidos los ácidos, se tapan los tubos con sus correspondientes tapas, siendo necesario colocar la tapa específica del sensor térmico en una muestra, que actuará de tubo de control. Se llevan los tubos a los encamisados de cerámica, y se aseguran las tapas con el aro sujetor y se colocan las placas adaptadoras. Se colocan en el carrusel del microondas y se cierra a presión con una llave dinamométrica. Una vez cerrados, se introducen en el digestor de microondas Ethos Plus Milestone.

En cada ensayo, el carrusel está formado por 5 muestras con los ácidos adicionados y un blanco que contiene únicamente los ácidos de digestión. El proceso de digestión se controla mediante un ordenador conectado al horno microondas que contiene el programa de digestión que consiste en una rampa de temperaturas que comienza desde la temperatura ambiente hasta alcanzar  $180 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , durante este periodo de tiempo la potencia de radiación microondas se ve aumentada hasta llegar a la potencia necesaria para obtener la temperatura deseada. La siguiente etapa consiste en una conservación de dicha temperatura durante 4 minutos y medio, para ello la radiación microondas mantiene la potencia constante.

Por último, pasado este periodo de tiempo, se apaga la radiación microondas y se deja descender la temperatura hasta completar el programa, con una duración aproximada de 1 hora. Tras este periodo de tiempo se considera que la digestión ha finalizado.

A continuación, se extrae el carrusel del horno microondas y se abren mediante la llave dinamométrica en campana extractora, ya que aún pueden tener algo de presión en su interior y llegar a expulsar pequeñas gotas de ácido. Se retiran las placas adaptadoras, el aro sujetor y los cilindros cerámicos. Después se retiran las tapas y se arrastran las gotas condensadas sobre estas con agua desionizada mQ, se dejan abiertos durante unos minutos para favorecer la eliminación de los vapores de óxido nítrico producidos durante la digestión.

Posteriormente se realiza el trasvase del producto de digestión a matraces de 50 ml, utilizando un embudo cónico pequeño. Se vuelca el contenido de los tubos digestores sobre el embudo y se arrastra mediante varios lavados los restos que haya podido quedar, tanto en el tubo como en el embudo usando agua mQ y se enrasan con agua.

Las muestras contienen partículas en suspensión incluso tras la digestión, por ello es necesario llevar a cabo un proceso de filtración previo a la realización del análisis. Para ello, se trasvasa el contenido de los matraces a un vaso de precipitados y se deja sedimentar las partículas en suspensión durante unos minutos.

A continuación, mediante una jeringa de plástico se realiza el proceso de filtración utilizando filtros de  $0,45\mu\text{m}$  de nylon sobre tubos de polietileno correctamente etiquetados.

Una vez filtrado sobre los tubos de polietileno, estos se conservan en frío a  $4^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis para evitar la degradación.

### **3.5. Fraccionamiento químico (B.C.R.)**

El procedimiento B.C.R. se fundamenta en llevar a cabo de forma secuencial tres extracciones, aplicando en cada una, un agente extractante al residuo proveniente de la anterior extracción, como se ha explicado anteriormente en el apartado 1.4.

#### **3.5.1. Procedimiento experimental**

A continuación, se desarrolla la forma de proceder dicho fraccionamiento en el laboratorio:

- **Fracción 1**

También es aquella que se asocia a los carbonatos. Esta etapa utiliza el ácido acético  $0,11\text{ M}$  como reactivo extractante. Para llevar a cabo su preparación se tomaron  $25\text{ ml}$  de ácido acético glacial de calidad P.A y se vertieron en un matraz aforado de  $1000\text{ ml}$ , el cual se enrasó con agua destilada. La disolución obtenida tenía una concentración de  $0,43\text{ M}$ , para obtener la concentración deseada, se tomaron  $64\text{ ml}$  y se diluyeron en un matraz de  $250\text{ ml}$  con agua destilada hasta el enrase. El primer paso, fue la preparación de un blanco analítico, para ello se tomaron  $20\text{ ml}$  de ácido acético  $0,11\text{ M}$  y se introdujeron en un tubo de centrífuga. En cuanto al tratamiento que se utilizó para las muestras fue el siguiente:

Se pesaron, en tubos de centrífuga, de la forma más precisa  $0,5\text{ g}$  de 6 muestras de residuos, además de un patrón de referencia MCR-601 en la balanza analítica. Posteriormente se

añadió un volumen de 20 ml ácido acético glacial de 0,11M a cada uno de los tubos y se cerraron.

Una vez realizado esto, se pasó a colocar cada uno de los tubos en los brazos del equipo *Vibromatic*, el cual se puso en funcionamiento en su posición infinita, durante un periodo de 16 h a 500 rpm, aproximadamente una noche entera a agitación. Pasado ese tiempo, el contenido de los tubos se centrifugó a 3900 rpm durante 25 min, usando el equipo que se usó en la etapa de la digestión. Una vez se completó este proceso, se pasó a decantar dichos tubos en matraces de 50 ml, los cuales fueron enrasados con agua destilada, para poder posteriormente filtrarlos con filtros de nylon de 0,45  $\mu\text{m}$  mediante el uso de jeringuillas de 1 ml e introducir el volumen filtrado en botes de polietileno de 50 ml.

Los extractos que denominamos fracción N° 1 y se almacenaron en frío (4 °C) hasta que se analizaron. Para obtener la muestra que se utilizó para generar la fracción 2, se tomaron los tubos de centrifuga con el residuo sólido, y se lavaron con 20 ml de agua destilada, se colocaron en el equipo *Vibromatic* durante 15 min a 3900 rpm para finalizar centrifugándolos durante a 3900 rpm un tiempo de 20 min. Una vez realizado este proceso se retiró el agua destilada teniendo cuidado de no retirar el residuo.

- **Fracción 2**

Aquella que se asocia a los óxidos hidratados de hierro y manganeso. En esta etapa el reactivo que se utilizó como agente extractante fue el  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$  (*clorhidrato de hidroxilamina*) de 0,5 M. Este compuesto es inestable, por lo que hubo que prepararlo en el momento de realizar esta extracción. La preparación se llevó a cabo pesando 8,69 g de  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$  y disolviéndolos en 100 ml de agua destilada en un vaso de precipitado de 250 ml en agitación constante con un imán que permitió su mejor disolución. A su vez, también se utilizó una disolución de ácido Nítrico 2 M, la cual se consiguió tomando 1,4 ml de ácido Nítrico concentrado al 65% en un matraz aforado de 10 ml también enrasando con agua destilada. Por último, se tomaron 6,25 ml de esta última disolución y se añadieron a la disolución de  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ , para finalizar la preparación del reactivo extractante, se vertió en un matraz aforado de 250 ml el volumen del vaso de precipitado y se enrasó con agua destilada.

Una vez que se tuvo el reactivo, al residuo sólido de la primera extracción y al blanco se le añadió 20 ml de la disolución preparada. Tras ello se colocaron en el *Vibromatic*, y al igual que para la fracción 1, se puso en agitación 16 h a 500 rpm.

Transcurrido ese tiempo, el contenido de los tubos se centrifugó durante 25 min a 3900 rpm. El contenido de esos tubos se decantó en matraces aforados de 50 ml enrasándose con agua destilada. Después se filtraron usando el mismo tipo de filtro que para la fracción 1 (filtros de nylon de 0,45 m) y depositando el volumen en botes de 50 ml de polietileno. Al igual que antes, los extractos se almacenaron a 4 °C hasta que se analizaron.

Los tubos de centrifuga con el residuo sólido se lavaron con 20 ml de agua destilada, se colocaron en el equipo *Vibromatic* durante 15 min a 500 rpm y por último se centrifugaron durante 20 min a 3900 rpm. Una vez finalizado este proceso, se retiró el agua destilada añadida.

- **Fracción 3**

Esta fracción es la asociada a materia orgánica y sulfuros. Para generarla, los reactivos que se necesitaron fueron, una disolución de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de concentración 8,8 M y otra de acetato amonio (AcONH<sub>4</sub>) de concentración 1,0 M.

Para la preparación de la disolución de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de concentración 8,8 M, se tomaron 226 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30 % y se añadieron a la disolución aproximadamente dos gotas de HNO<sub>3</sub> concentrado al 65% para alcanzar un pH de 2 (el cual se confirmó con un *pH-metro*), ésta se llevó a un matraz aforado de 250 ml y se enrasó con agua destilada. Mientras que para la preparación de disolución de AcONH<sub>4</sub> de concentración 1,0 M se tomaron 59 ml de NH<sub>3</sub> al 33 % y 57 ml de HAcO glacial añadiéndose sobre 500 ml de agua destilada, todo esto se realizó en campana extractora debido a que esta disolución se calienta y desprende vapores tóxicos procedentes del acetato de amonio. Tras esto, se esperó un tiempo para que la disolución preparada alcanzase temperatura ambiente, posteriormente se añadieron 65 ml de HNO<sub>3</sub> del 65%, haciendo que la disolución adquiriese un pH de 2. La adición de HNO<sub>3</sub> del 65%, se realizó con extremo cuidado y de poco en poco, debido a que la reacción se calentaba.

Se volvió a esperar a que la disolución alcanzase temperatura ambiente, para poder trasvasarla a un matraz aforado de 1 L y enrasarla con H<sub>2</sub>O destilada.

Posteriormente a la realización de las disoluciones, se empezó a tratar los residuos sólidos guardados de la segunda extracción. A ellos y a un blanco, se les añadió 5 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (8,8 M) para provocar la digestión, la cual duró aproximadamente 1 h, teniendo los tubos de centrífuga a temperatura ambiente, y teniendo cuidado de que no se encontraran cerrados del todo, debido a que se podían liberar gases, por lo que fue conveniente agitar los tubos para favorecer la homogenización y la expulsión de esos gases. Estos gases son burbujas de O<sub>2</sub> procedentes de la reducción del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Más tarde se preparó un baño de agua a 85 °C de una mezcla de agua desionizada y agua destilada. Los tubos de centrífuga se cerraron completamente y se introdujeron en el baño de agua durante 1h. Después de esa hora se elevó la temperatura del baño hasta conseguir la ebullición del contenido de los tubos para ello se destaparon los tubos para conseguir una buena evaporación de la disolución, que permitió la reducción del volumen hasta aproximadamente 1,5 ml. La reducción a ese volumen tardó alrededor de unos 35 min y después de esos minutos se añadieron otros 5 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (8,8 M) a los tubos y se mantuvieron en el baño de agua a 85 °C durante 1 h agitando de vez en cuando.

A continuación, los tubos se destaparon y se volvieron a llevar a ebullición reduciéndose el volumen de la disolución a unos 0,5 ml (todo esto sin llegar a sequedad completa), la reducción a ese volumen tardó aproximadamente otros 35 minutos. Posteriormente, los tubos se sacaron del baño de agua y se dejaron enfriar hasta que alcanzaron temperatura ambiente. Se tomaron 25 ml AcONH<sub>4</sub> de 1,0 M y se añadieron a cada tubo. En ese momento, los botes se cerraron y se colocaron en el equipo *Vibromatic* para que se mantuviesen en agitación durante 16h a 500 rpm. A la mañana siguiente el contenido de los tubos se centrifugó durante 25 min a 3900 rpm. El contenido resultante de dichos tubos se decantó en matraces aforados de 50 ml, los cuales se enrasaron con agua destilada. Estas disoluciones generadas se filtraron mediante jeringas de 10 ml con filtros de nylon de 0,45 µm, vertiendo el filtrado en botes de polietileno de 50 ml. Los extractos generados de esta tercera y última extracción se almacenaron a 4°C hasta su posterior análisis.

En este caso ya no fue necesario lavar ni guardar los residuos secos generados, debido a que el procedimiento de fraccionamiento químico acabó con esta última etapa.

El siguiente esquema (figura 10) muestra las etapas que se llevan a cabo en el proceso:

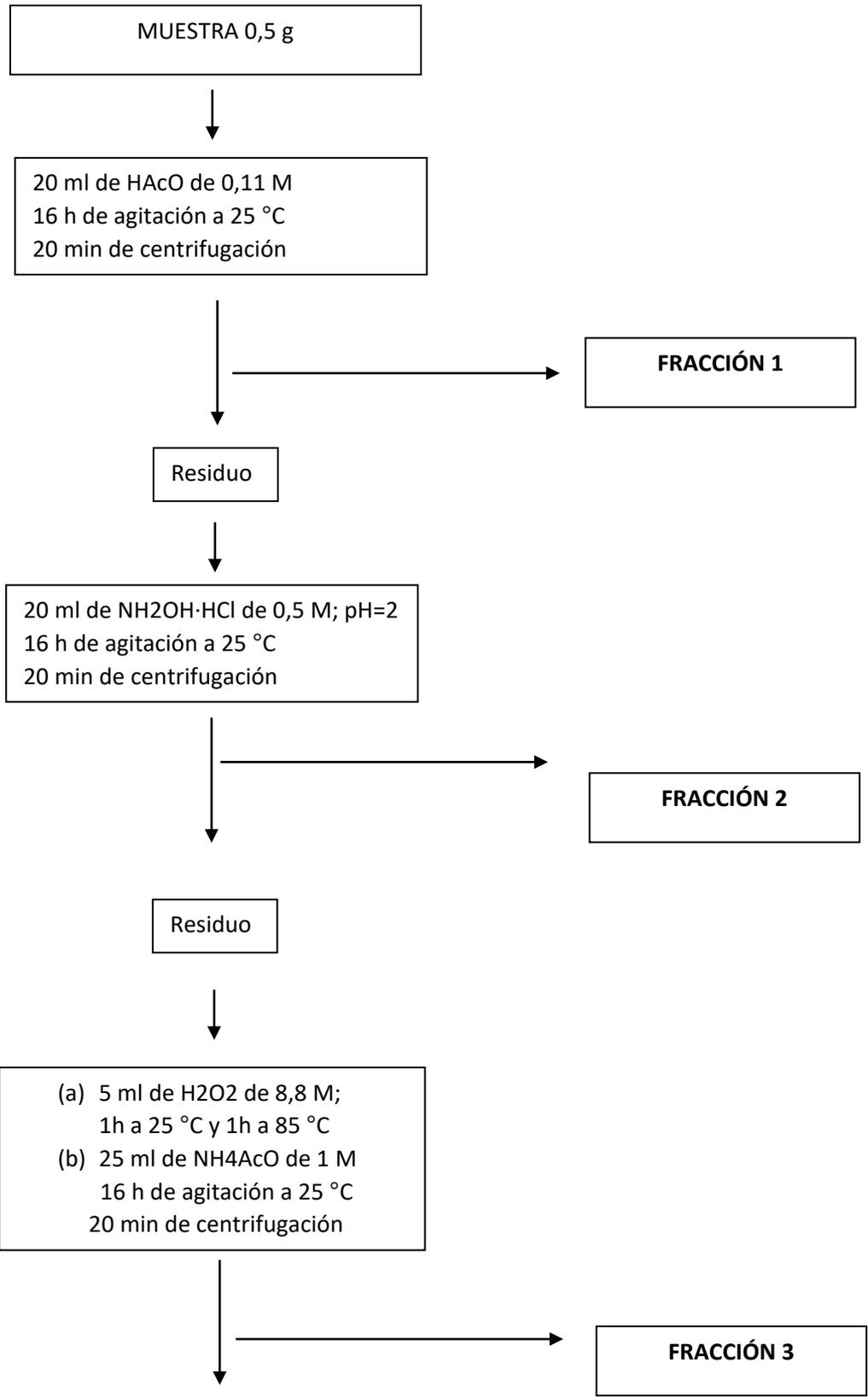


Figura 10.- Esquema del fraccionamiento químico BRC.

### 3.6. Determinación mediante espectrometría ICP-MS

Esta técnica se ha utilizado para determinar los contenidos pseudototales y los extractos del fraccionamiento químico B.C.R. El uso de esta técnica permite cuantificar los elementos en un rango dinámico lineal de hasta 8 órdenes de magnitud (ng/L - mg/L), y con unos límites de detección para la mayoría de los elementos de unas pocas ppb – ppt. En este caso, 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.

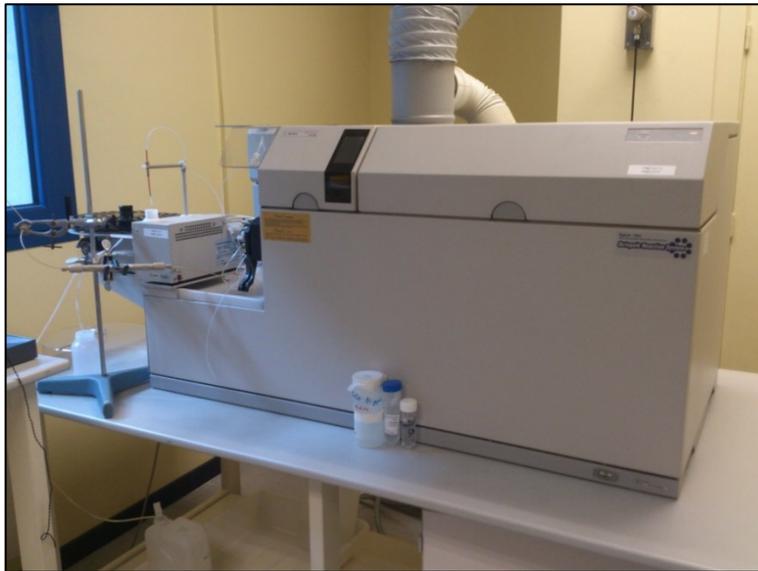


Figura 11.- Espectrómetro AGILENT 7500c equipado con un detector de masas

Las condiciones operativas han sido:

- Parámetros del plasma:
  - *Potencia de Radiofrecuencias: 1500 w*
  - *Voltaje de Radiofrecuencias: 1,68 V*
  - *Distancia del cono muestreador: 7,3 mm*
  - *Gas portador: 1,25 L/min;*
  - *Bomba nebulizadora: 0,15 rpm..*
- Celda de reacción (Octopolo):
  - *H<sub>2</sub> gas: 0 ml/min*
  - *He gas: 3,5 ml/min*

El estudio se llevó a cabo sobre el isótopo de cada metal con el que se obtenían mejores resultados. Estos isótopos se seleccionan en base a las siguientes condiciones:

- El isótopo sea lo suficientemente abundante como para poder ser observado.
- El isótopo no presente interferencias.

**Tabla 4.- Isótopos de los elementos estudiados**

<b>Cr</b>	<b>Ni</b>	<b>Cu</b>	<b>Zn</b>	<b>As</b>	<b>Cd</b>	<b>Pb</b>
53	60	63	66	75	111	208

Los contenidos Pseudototales y los extractos del fraccionamiento químico B.C.R. se analizaron mediante el método de estándar interno, se utilizó un patrón multielemental de 50 µg/L de Sc (45), Ge (72), Lu (175) y Tb (159), de modo que se cubría así un amplio rango de masas y que sirven para que no derive el equipo con el tiempo y eliminar interferencias de matriz.

Para llevar a cabo la preparación de las líneas de calibrado, éstas fueron preparadas a partir de un patrón multielemental de SCHARLAB de 26 elementos usando como disolvente ácido nítrico 5%, obteniendo finalmente una serie de patrones con concentraciones entre 1 y 100 µg/L.

Como consecuencia del gran número de muestras y de las diferentes matrices, las determinaciones se llevaron a cabo en tandas y con diferentes líneas de calibrado.

A continuación, se resumen los parámetros de las líneas de calibrado de la Fracción 1 y 2, correspondiente a las fracciones asociadas a carbonatos y a óxidos reducibles de Fe y Mn.

Tabla 5.- Datos de las curvas de calibrado de los elementos estudiados

	Ordenada en el origen			Pendiente			r <sup>2</sup>
	Valor	Intervalo		Valor (µg/L)	Intervalo		
<b>Cr</b>	0,80	0,77	0,83	4,21	-7,51	15,93	0,996
<b>Ni</b>	0,87	0,84	0,91	5,59	-7,37	18,56	0,996
<b>Cu</b>	1,02	0,98	1,06	4,28	-10,25	18,80	0,997
<b>Zn</b>	1,02	0,99	1,05	5,12	-8,06	18,30	0,997
<b>As</b>	0,96	0,92	0,99	4,16	-9,26	17,58	0,997
<b>Cd</b>	0,95	0,92	0,99	4,85	-9,22	18,92	0,996
<b>Pb</b>	1,03	0,99	1,06	0,95	-13,05	14,94	0,997

También se adjunta la representación gráfica de una de las líneas de calibrado, en este caso la del elemento Zn.

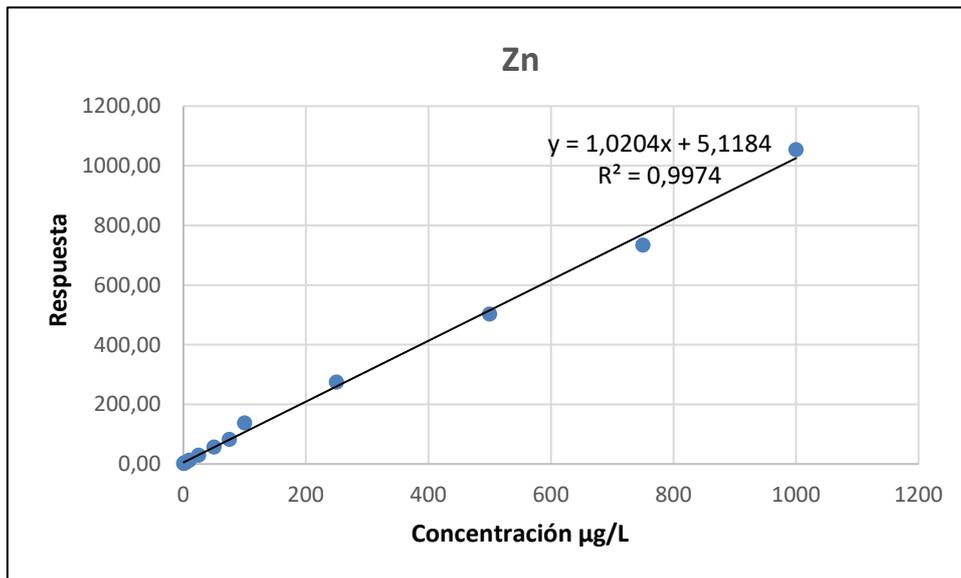


Figura 12.- Línea de calibrado del <sup>66</sup>Zn

### Límites de Detección y Cuantificación instrumentales

Se entiende por límite de detección (LOD) a la concentración mínima de analito que se puede detectar por un método analítico determinado, esta se estima a través de la siguiente fórmula:

$$X_{LOD} = 3.29 * \frac{S_e}{b_1}$$

siendo  $S_e$  el error típico asociado a la regresión y  $b_1$  la pendiente de la línea de calibrado.

Mientras que se define al límite de cuantificación (LOQ) a la concentración mínima de analito que se puede cuantificar por un método analítico determinado. La fórmula es la siguiente:

$$X_{LOQ} = 10 * \frac{S_e}{b_1}$$

Por lo que a continuación se muestra una tabla con los límites de detección y cuantificación obtenidos:

**Tabla 6.- Límites de Detección y Cuantificación instrumentales**

Elemento/ mg/kg	LOD	LOQ
Cr	1,24	3,78
Ni	1,03	3,15
Cu	1,51	4,61
Zn	1,15	3,50
As	1,44	4,38
Cd	1,29	3,94
Pb	6,62	20,11

### VALIDACIÓN DEL PROCEDIMIENTO

El procedimiento se validó mediante el uso de un material certificado de referencia, en este caso el Lot No. D054-540 sometido al mismo tratamiento que las muestras analizadas para determinar los contenidos pseudototales. Los resultados obtenidos se comparan con los proporcionados por el certificado comprobando que todos se encuentran en el intervalo.

**Tabla 7.- Límites de Detección y Cuantificación instrumentales en la determinación de contenidos Pseudototales**

Elemento	Valor certificado	Intervalo certificado	Valor obtenido
Cr	125	102 — 148	133,71
Ni	105	84,5 — 125	87,45
Cu	82,7	69,1 — 96,3	92,50
Zn	117	91,2 — 137	132,38
As	160	125 — 195	122,95
Cd	96,3	80,6 — 112	84,89
Pb	126	107 — 145	139,74

Del mismo modo se llevó a cabo la validación del fraccionamiento químico, usando el material de referencia MRC 601, observándose que el procedimiento queda validado.

**Tabla 8.- Límites de Detección y Cuantificación instrumentales asociados al fraccionamiento químico B.C.R.**

	Elemento	Valor certificado (mg/kg)	Intervalo Certificado (mg/kg)	Valor experimental (mg/kg)
F1	Cd	4,45	2,44—6,46	4,69
	Cr	0,35	0,11—0,59	0,10
	Cu	10	7,6—12,4	7,9
	Ni	7,82	5,3—10,34	8,90
	Pb	2,28	0,96—3,6	3,30
	Zn	261	246—276	270
F2	Cd	3,95	2,36—5,54	4,44
	Cr	10,6	7,9—13,3	13,0
	Cu	73,8	59,1—88,5	69,8
	Ni	10,6	7—14,2	11,1
	Pb	205	172—238	199
	Zn	266	215—317	268
F3	Cd	1,91	0—6,2	2,27
	Cr	14,4	6,66—22,6	12,7
	Cu	78,6	51,9—105,3	75,1
	Ni	6,04	2,23—9,85	4,49
	Pb	19,7	2,3—37,1	15,4
	Zn	106	73--139	113

### **3.5. Herramientas informáticas**

El tratamiento y cálculo de los datos se realizó mediante el programa Excel 2010 y la realización de pruebas estadísticas mediante el paquete estadístico de STATGRAPHICS Centurion XVII.



## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Resultados experimentales

Para no sobrecargar el trabajo, los datos experimentales obtenidos se detallan en el correspondiente Anexo, de forma que a continuación solo se presentan los resultados llevados a cabo sobre los datos con las diferentes herramientas quimiométricas.

### 4.2. Caracterización por difracción de rayos X

Las muestras geológicas utilizadas en este trabajo presentan gran variedad de fases cristalinas conformando su estructura cristalina. El análisis de estas muestras mediante la técnica de difracción de rayos X permite conocer las fases cristalinas que se encuentran en mayor abundancia en cada una de las muestras. A modo de ejemplo, a continuación se observa dos difractogramas que corresponden a dos de las muestras (9 y 16) que se han estudiado en este trabajo. En este primero (Figura 13), cabe destacar la señal más intensa, la cual corresponde a calcita y albita (*carbonato cálcico*), debido a que se trata de un suelo calizo.

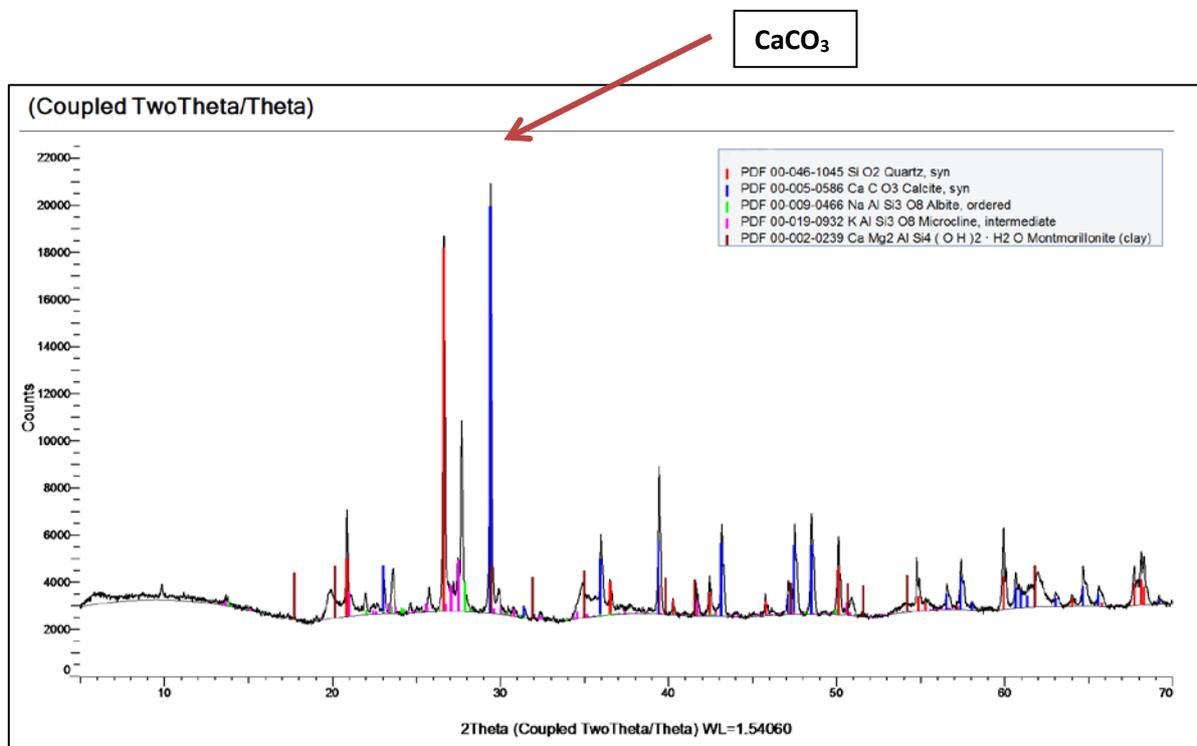


Figura 13.- Difractograma correspondiente a una de las muestras (16) analizadas de Zacatecas.

También se observa que la fase cristalina principal en todos los sedimentos estudiados es el cuarzo ( $\text{SiO}_2$ ), debido a que es el mineral más abundante en la litosfera, como se observa en este segundo difractograma (muestra 9, Figura 14) donde se aprecia que la señal más intensa corresponde a este compuesto.

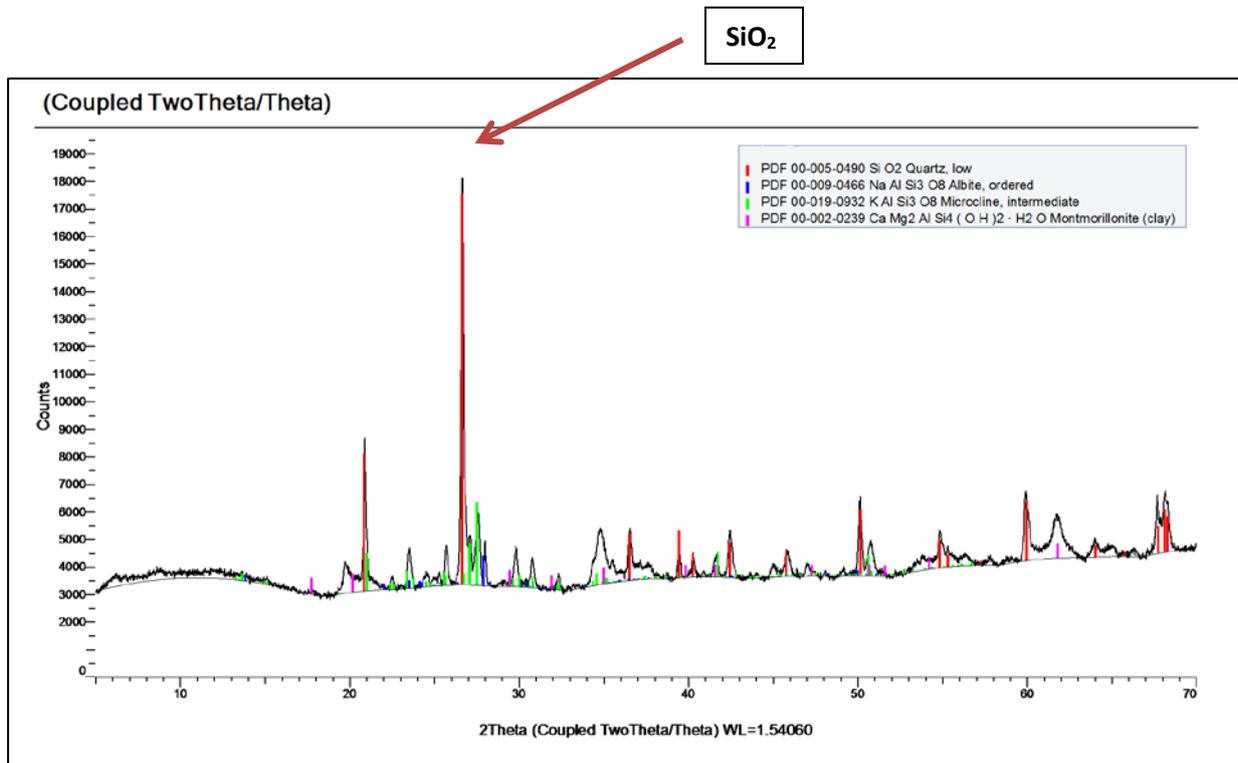


Figura 14.- Difractograma correspondiente a una de las muestras 9 analizadas de Zacatecas.

### 4.3. Análisis estadístico univariante

A continuación, se resumen en las siguientes tablas los datos estadísticos más relevantes de los contenidos Pseudototales y de las tres fracciones extraídas de realizar el Fraccionamiento químico B.C.R. y de la fracción residual que como se ha explicado anteriormente se obtiene de la diferencia del sumatorio de las tres fracciones de los contenidos pseudototales.

También se presenta un *box-plot* (gráficos de cajas y bigotes) de cada uno de los contenidos estudiados, los cuales consisten en cajas rectangulares, en la que se incluyen el 50% de los datos, éstas se encuentran divididas por un segmento que se encarga de indicar la posición de la mediana (segundo cuartil). Mientras que las líneas o los llamados bigotes son aquellas que sobresalen por ambos lados y representan los rangos del 25% de valores de datos de la parte inferior y el 25% de la parte superior. Permiten visualizar la simetría de la distribución y detectar la presencia de valores anómalos.

#### 4.3.1. Contenidos Pseudototales

Tabla 9.- Parámetros estadísticos de los contenidos pseudototales

pseudototales	Cr	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Pb
Media	34,50	22,24	120,25	148,83	34,77	1,09	71,45
Error típico	7,52	5,06	61,28	33,49	14,06	0,43	22,96
Mediana	23,01	14,51	30,47	95,94	13,01	0,59	51,08
Desviación std	31,90	21,48	259,99	142,10	59,67	1,82	97,40
Varianza	1017,61	461,21	67593,59	20191,14	3560,63	3,32	9487,49
Curtosis	2,25	2,43	6,07	3,75	8,54	13,13	10,23
Coef. de asimetría	1,67	1,71	2,70	2,03	2,90	3,51	3,00
Rango	115,21	78,32	877,37	524,83	236,54	7,87	411,44
Mínimo	6,19	3,10	4,80	22,64	2,17	0,06	7,79
Máximo	121,40	81,41	882,17	547,47	238,71	7,93	419,23
Suma	620,93	400,35	2164,45	2678,99	625,85	19,59	1286,07

El estudio de los valores obtenidos muestra que el Zn aparece con una concentración elevada de forma general, así como el Cu destaca también con respecto a los demás, seguido del Pb

Mientras que también, este estudio permite observar que el Cd aparece en una concentración muy baja respecto al resto de elementos.

A continuación, se representa el gráfico de caja y bigotes de los elementos analizados, una visión más gráfica de los datos presentados en la tabla anterior.

Como se puede observar el Zn es el elemento que presenta un mayor media y desviación típica. El Pb presenta también una desviación típica elevada, mostrando una gran dispersión de resultados. Cabe destacar la presencia de varios puntos muy alejados de las medias para el Cu, Zn, As y Pb.

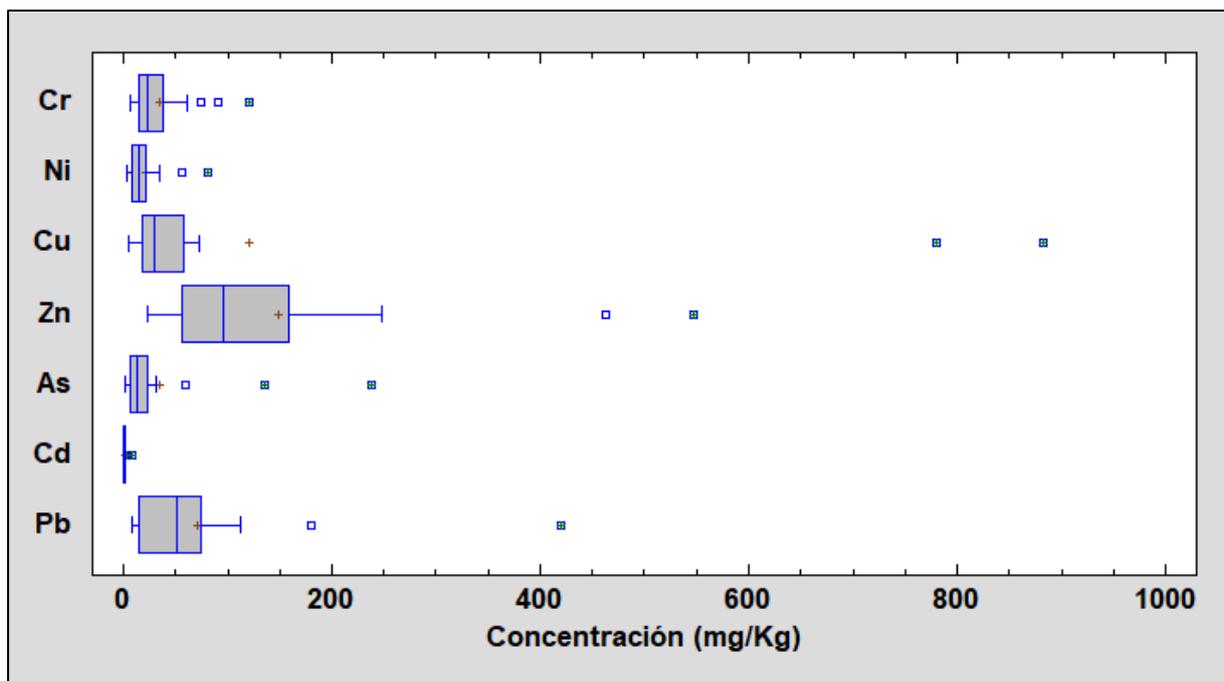


Figura 15.- Boxplot de los contenidos pseudo totales

#### 4.3.2. Contenidos del Fraccionamiento Químico (B.C.R.)

A continuación, se va a llevar a cabo el mismo análisis estadístico para los datos obtenidos del fraccionamiento químico.

**Tabla 10.- Parámetros estadísticos de los contenidos en la Fracción 1**

<b>FRACCIÓN 1</b>	<b>Cr</b>	<b>Ni</b>	<b>Cu</b>	<b>Zn</b>	<b>As</b>	<b>Cd</b>	<b>Pb</b>
Media	0,10	0,77	9,60	13,62	1,99	0,24	0,36
Mediana	0,07	0,63	0,59	7,97	0,32	0,14	0,23
Desviación estándar	0,08	0,58	36,98	16,51	4,13	0,32	0,48
Coef. de asimetría	1,75	1,19	4,24	2,80	2,43	2,39	2,25
Rango	0,31	1,90	157,64	70,80	13,80	1,21	1,80
Mínimo	0,02	0,13	0,07	0,84	0,02	0,01	0,00
Máximo	0,33	2,03	157,71	71,64	13,82	1,22	1,80

**Tabla 11.- Parámetros estadísticos de los contenidos en la Fracción 2**

<b>FRACCION 2</b>	<b>Cr</b>	<b>Ni</b>	<b>Cu</b>	<b>Zn</b>	<b>As</b>	<b>Cd</b>	<b>Pb</b>
Media	2,65	3,25	22,13	32,20	3,27	0,48	35,39
Mediana	2,26	1,98	5,47	32,34	0,72	0,23	38,89
Desviación estándar	1,55	3,18	62,94	25,48	6,65	0,96	29,09
Coef. de asimetría	1,68	1,81	4,12	1,10	2,64	3,94	0,78
Rango	6,58	11,15	271,30	97,78	22,63	4,21	104,25
Mínimo	0,67	0,49	0,65	1,08	0,15	0,02	0,43
Máximo	7,25	11,65	271,96	98,86	22,78	4,23	104,68

**Tabla 12.- Parámetros estadísticos de los contenidos en la Fracción 3**

<b>FRACCION 3</b>	<b>Cr</b>	<b>Ni</b>	<b>Cu</b>	<b>Zn</b>	<b>As</b>	<b>Cd</b>	<b>Pb</b>
Media	3,54	2,57	19,11	25,42	1,98	0,11	7,87
Mediana	2,39	2,15	5,73	18,03	1,04	0,08	7,19
Desviación estándar	2,98	2,39	41,07	23,09	2,59	0,10	5,37
Coef. de asimetría	1,15	1,76	2,73	2,66	1,95	3,10	0,44
Rango	9,05	8,99	140,95	97,68	8,92	0,46	15,87
Mínimo	0,60	0,44	0,92	6,78	0,11	0,02	1,23
Máximo	9,65	9,43	141,87	104,46	9,04	0,48	17,10

**Tabla 13.- Parámetros estadísticos de los contenidos en la Fracción Residual**

<b>RESIDUAL</b>	<b>Cr</b>	<b>Ni</b>	<b>Cu</b>	<b>Zn</b>	<b>As</b>	<b>Cd</b>	<b>Pb</b>
Media	28,21	15,66	69,41	77,60	27,53	0,26	28,40
Mediana	18,33	9,76	19,32	39,30	11,17	0,10	4,24
Desviación est.	27,87	15,81	150,70	103,71	47,65	0,55	84,97
Coef. de asimetría	1,70	1,76	3,08	2,68	3,00	3,70	4,08
Rango	100,69	58,37	591,46	438,59	193,19	2,35	364,66
Mínimo	3,64	1,81	1,80	0,00	1,72	0,01	0,00
Máximo	104,33	60,18	593,26	431,31	194,91	2,35	364,66

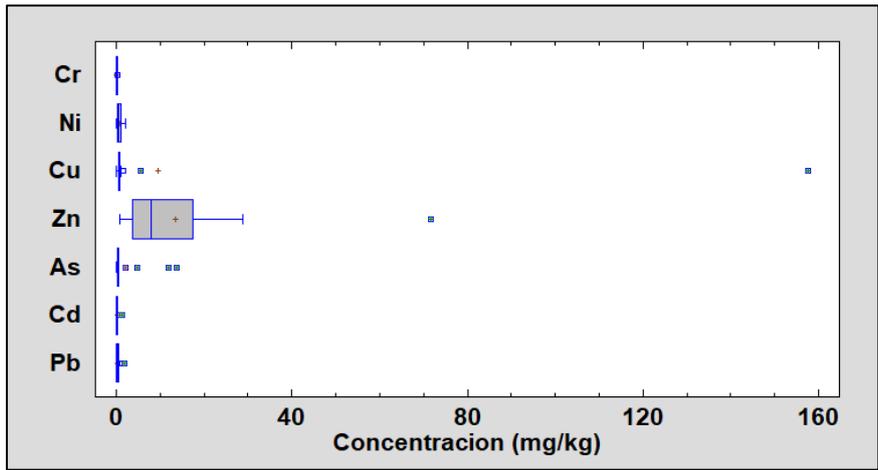


Figura 16.- Boxplot de los contenidos de la Fracción 1

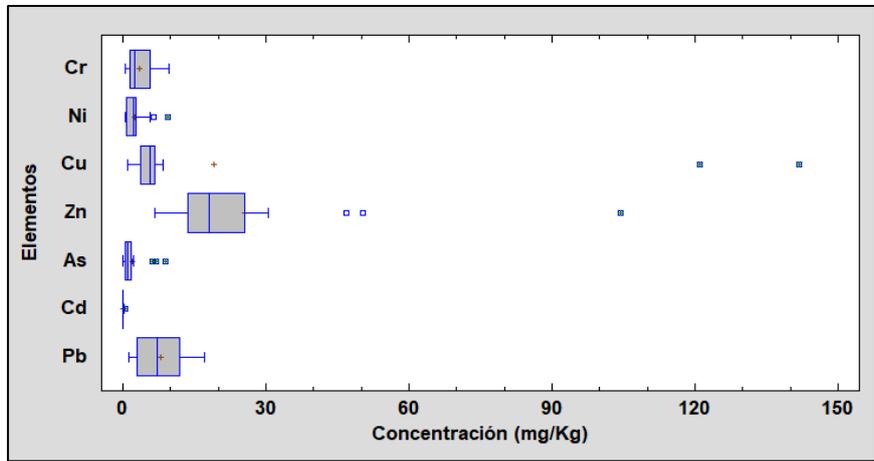


Figura 16.- Boxplot de los contenidos de la Fracción 2

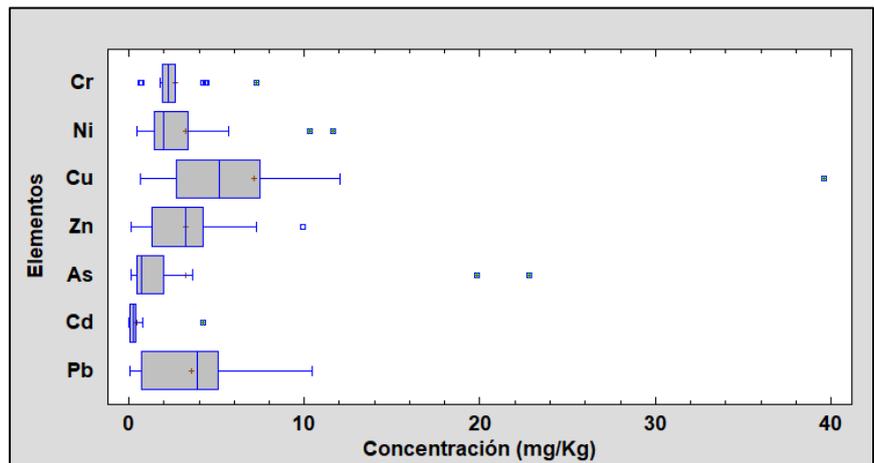
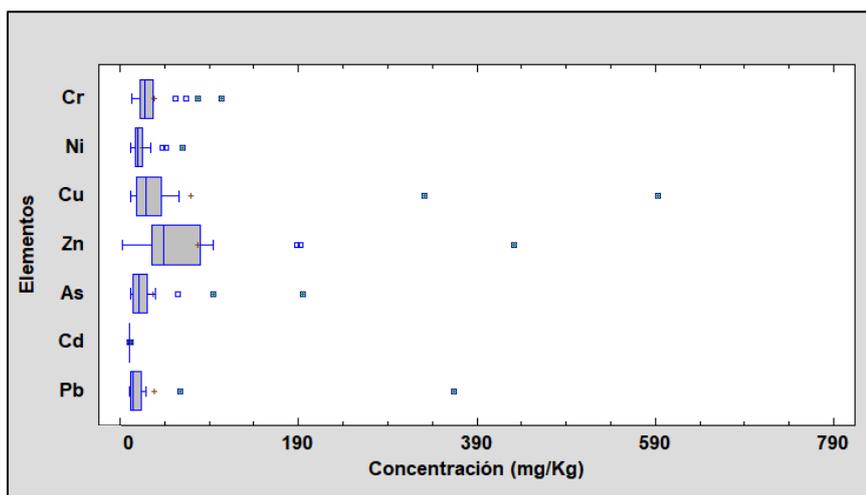


Figura 17.- Boxplot de los contenidos de la Fracción 3



**Figura 23.- Boxplot de los contenidos de la Fracción Residual**

Como se observa, en las tablas de cada una de las tres fracciones extraídas de fraccionamiento, el Zn sigue siendo el elemento en mayor abundancia, generalmente seguido del Cu y posteriormente el Pb.

Al igual que sucedía para los contenidos pseudototales, se aprecian cantidades mínimas para el Cd en cada una de las tres fracciones.

En cuanto a la representación de cada una de las fracciones por box-plot, se vuelve a apreciar el comportamiento del Zn, el cual tiene una mayor dispersión de los datos con distribución poco simétrica siendo esta negativa, ya que los valores se centran más cerca de la izquierda, es decir, del límite inferior, en la fracción 1 y 2, mientras que en la tercera fracción la distribución es positiva.

Se observa en la fracción 3, un contenido elevado para el Cu y para el Pb. Y en cuanto a la localización de valores dispersos, se aprecian algunos para el Cu y Zn en las fracciones 2 y 3.

Para el resto de los elementos, se observa cierta similitud entre ellas en casa una de las tres fracciones.

Con respecto a lo que describe la fracción Residual, prácticamente coincide con lo descrito en las tres fracciones anteriores. Los contenidos más elevados recaen sobre el Zn y continúan para el Cu, seguidos del Pb. En cuanto a lo que describe su gráfico de blox-plot, se

observa la concentración elevada del Zn respecto al resto de elementos, además de que se encuentran varios valores alejados de la media para la mayoría de los elementos.

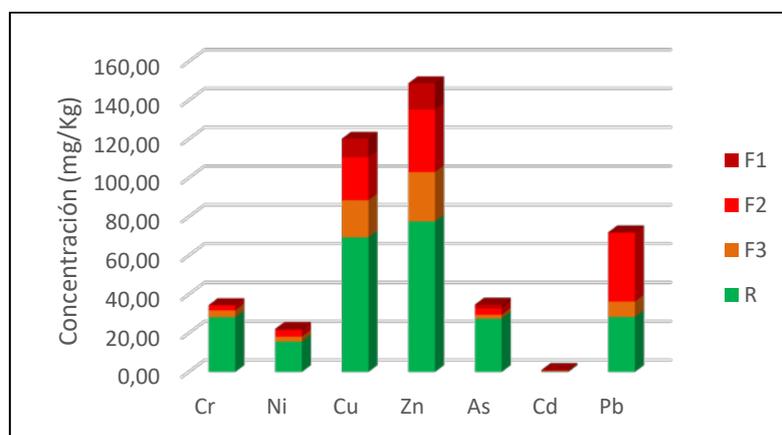
En la Fracción Residual nos encontramos con que algunos elementos presenten valores nulos, (*anexo*) esto se puede explicar con que en los tres primeros extractos se consigue extraer la totalidad de su contenido.

En la siguiente tabla se resumen los valores medios para cada uno de los elementos en cada una de las fracciones resultantes del estudio llevado a cabo a las muestras del suelo.

**Tabla 14.- Fraccionamiento B.C.R. medio de los elementos**

Fracción	Elemento						
	Cr	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Pb
<b>F1</b>	0,10	0,77	9,60	13,62	1,99	0,24	0,36
<b>F2</b>	2,65	3,25	22,13	32,20	3,27	0,48	35,39
<b>F3</b>	3,54	2,57	19,11	25,42	1,98	0,11	7,87
<b>F Residual</b>	28,21	15,66	69,41	77,60	27,53	0,26	28,40

Los valores medios de cada elemento en cada fracción se encuentran representados en forma de diagrama de barras en la Figura 23.



**Figura 23.- Gráfico de los contenidos medios de cada elemento en cada fracción**

Hay que tener en cuenta que en el fraccionamiento químico B.C.R., la disponibilidad, movilidad y el potencial de peligrosidad medioambiental de los metales tóxicos, va disminuyendo de fracción en fracción; en el orden F1 > F2 > F3 > F Residual.

Se observa que todos los elementos se encuentran mayoritariamente en la Fracción Residual que, según el orden, es la menos disponible y la que menos peligrosidad tiene. Por lo tanto, se puede afirmar que la peligrosidad medioambiental de las muestras es prácticamente inexistente. Debido a su poca movilidad.

#### 4.4. Análisis de Componentes Principales (ACP)

En este apartado se van a analizar tanto los resultados correspondientes a los contenidos pseudototales, como los resultados de los elementos extraídos en las tres fracciones y la residual, que se han venido estudiando a través de métodos univariantes (elemento a elemento), pero de forma simultánea por medio de herramientas quimiométricas multivariantes.

Esto se puede llevar a cabo gracias al Análisis en Componentes Principales (ACP), ya explicado anteriormente y que permite visualizar de forma global toda la información que se encuentra en la matriz de datos. A continuación, se exponen los resultados que se generan de llevar a cabo este tipo de análisis a nuestros datos, se van a obtener unas nuevas variables (*factores o componentes principales*), cuya representación de manera gráfica permite obtener información que no se encuentra disponible a primera vista en la matriz de datos original.

##### 4.4.1. Contenidos Pseudototales

El primer paso (aunque es 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 X, con los valores significativos en negrita.

**Tabla 15.- Matriz de correlación**

	Cr	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Pb
Cr	1						
Ni	<b>0,985</b>	1					
Cu	-0,200	-0,125	1				
Zn	0,261	0,312	<b>0,521</b>	1			
As	-0,134	-0,047	<b>0,910</b>	0,766	1		
Cd	0,018	0,093	<b>0,653</b>	<b>0,888</b>	<b>0,896</b>	1	
Pb	-0,014	0,061	<b>0,701</b>	<b>0,910</b>	<b>0,913</b>	<b>0,977</b>	1

El r crítico corresponde a un nivel de confianza del 95% y tiene un valor de 0,4683. Aquellos valores con un r en valor absoluto superior al r crítico indican una correlación significativa. Se observa que la mayoría de las correlaciones son positivas destacando las correlaciones entre el Ni y Cr y entre Cd y Pb; también aparecen valores elevados en las correlaciones del Zn con el Pb y el Cd. Posteriormente, se extraen los valores propios de la matriz de correlación, expresándolos en la tabla dónde se representan además el porcentaje de varianza y las varianzas acumuladas:

**Tabla 16.- Valores propios y porcentaje de varianza**

<b>Número</b>	<b>Valor Propio</b>	<b>% Varianza</b>	<b>% Acumulado</b>
1	4,279	61,13	61,13
2	2,129	30,41	91,54
3	0,473	6,76	98,31
4	0,083	1,19	99,51
5	0,017	0,25	99,76
6	0,012	0,17	99,94
7	0,003	0,05	100

Un valor propio se considera significativo cuando es mayor de 1, ya que en ese momento es cuando explica una mayor información que la variable original. Como se puede observar dos de los 7 valores propios cumplen dicha condición, de tal manera que, con la representación de los dos primeros factores, estamos llegando a explicar un 91,54% de la información de la tabla de datos original.

Un método más visual de estos resultados queda recogido en la gráfica de Scree o Sedimentación proporcionada por el programa STATGRAPHICS Centurion XVII.:

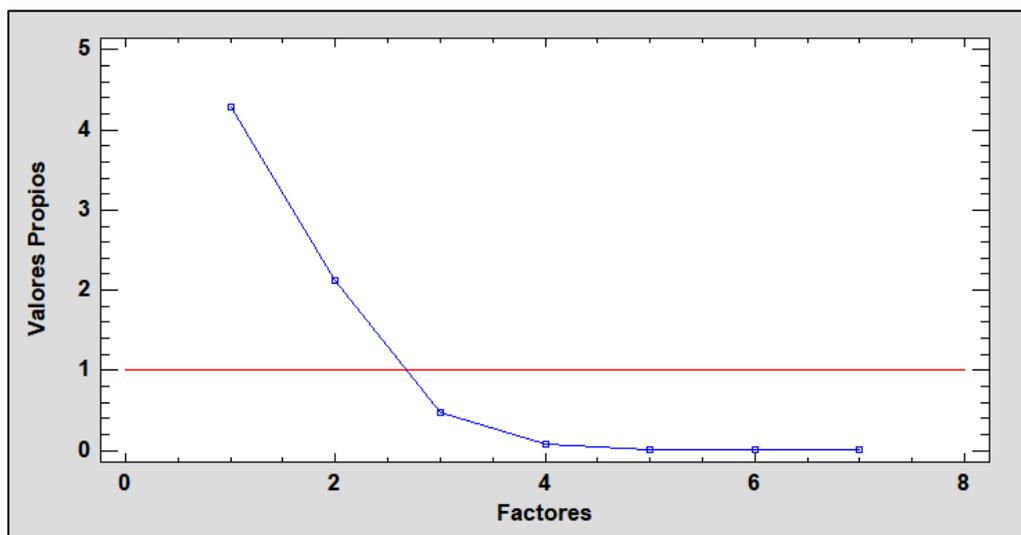


Figura 19.- Gráfico de Scree o de sedimentación.

Los valores representados son los mismo que los de la tabla, coincidiendo los factores 1 y 2 como aquellos con valores propios mayores de 1. A continuación, se obtiene la matriz de cargas o *loadings*, los cuales serían los coeficientes del modelo lineal aplicado para la obtención de los valores de las puntuaciones o scores a partir de los datos originales. Esta matriz se expresa en la tabla adjunta:

Tabla 12.- Matriz de Cargas

Elemento	Factor o componente						
	1	2	3	4	5	6	7
<i>Cr</i>	0,004	<b>0,679</b>	-0,164	-0,003	-0,013	-0,598	0,393
<i>Ni</i>	0,043	<b>0,673</b>	-0,204	0,168	0,064	0,598	-0,336
<i>Cu</i>	<b>0,390</b>	-0,185	-0,255	-0,198	0,150	-0,236	-0,355
<i>Zn</i>	<b>0,432</b>	0,195	0,384	-0,744	-0,228	0,033	-0,145
<i>As</i>	<b>0,467</b>	-0,112	-0,253	0,135	-0,416	0,361	0,619
<i>Cd</i>	<b>0,464</b>	0,020	0,296	0,489	-0,320	-0,307	-0,390
<i>Pb</i>	<b>0,473</b>	-0,003	0,251	0,117	0,404	0,061	0,223
Valor Propio	4,28	2,13	0,47	0,08	0,02	0,01	0,00
%Varianza	61,13	30,41	6,77	1,20	0,26	0,18	0,05
%Var. acumulado	61,13	91,55	98,31	99,51	99,77	99,95	100

Tal y como se ha comentado, los valores más elevados corresponden al factor en el cual se encuentra la información de dicho elemento; como se puede observar para *Cr* y *Ni* el valor más elevado se encuentra en el segundo factor, mientras que el resto de los elementos se encuentran descritos mayoritariamente por el primer factor, a continuación se describe esta

información en forma de grafica (figura 20). Este gráfico resalta la similitud entre el Cr y Ni, ambos muy apartados del resto de elementos estudiados, ambos próximos al eje representado por el factor 2, indicando que su información queda contenida en dicho factor (30,41%).

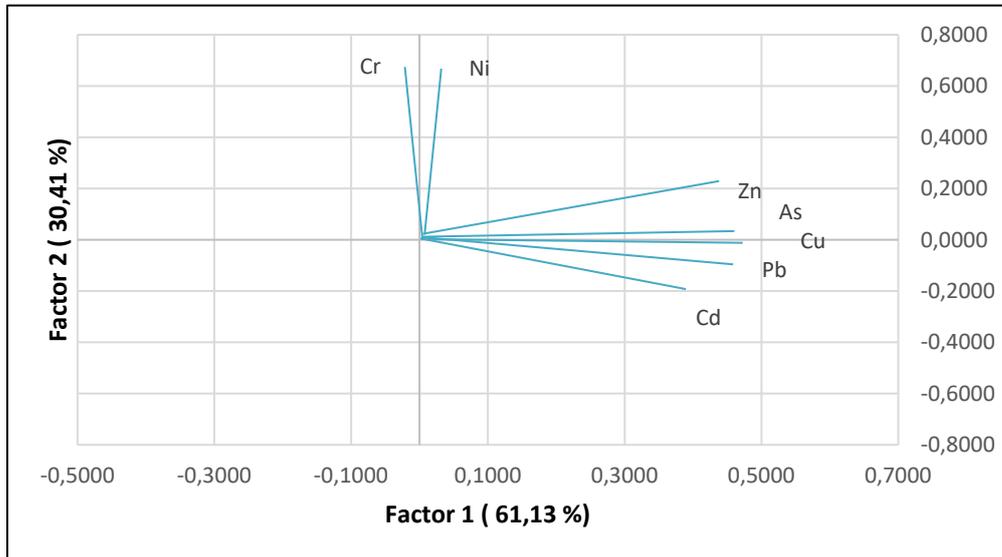


Figura 20.- Gráfico de cargas de los factores 1(x) y 2(y)

Mientras que el resto de los elementos se encuentran alejados de la zona central y próximos al eje representado por el factor 1, indicando que su información queda contenida en dicho factor, observándose un comportamiento similar entre Cr y Ni, pero distinto con el resto de los elementos. A pesar de que la mayor parte de información queda representada en los dos primeros factores puede realizarse la representación conjunta con el tercer factor, obteniendo un gráfico en 3D que permita visualizar el 98,31% de información:

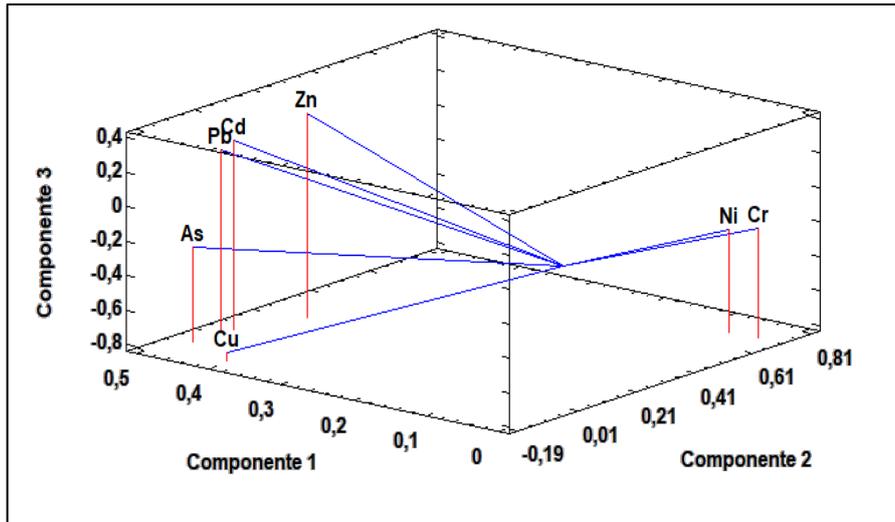


Figura 21.- Gráfica de Cargas 3D de los factores 1, 2 y 3.

La gráfica 22 muestra las puntuaciones correspondientes a los dos primeros factores conteniendo un 91,51% de la información. En este gráfico se aprecia el comportamiento homogéneo de las muestras ya que la mayoría de ellas residen en el centro de la gráfica.

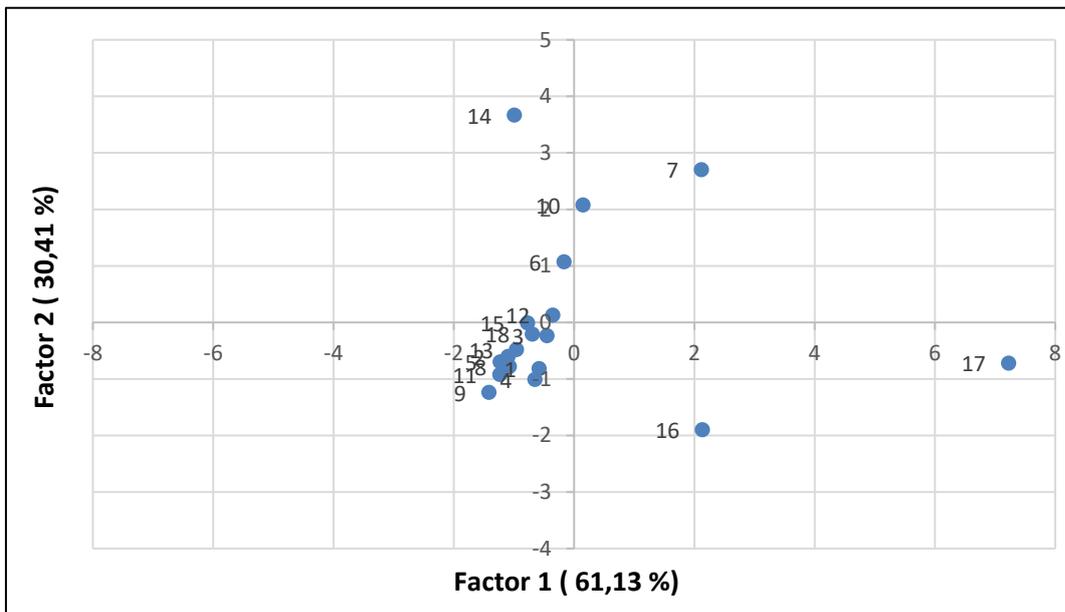


Figura 22.- Gráfico de puntuaciones de las diferentes muestras estudiadas

El último paso del ACP consiste en la construcción de gráficas bivariados (figura 23), donde se presentan en la misma gráfica los valores de las cargas y de las puntuaciones, permitiendo obtener conclusiones respecto del diferente comportamiento e información de la composición de los suelos:

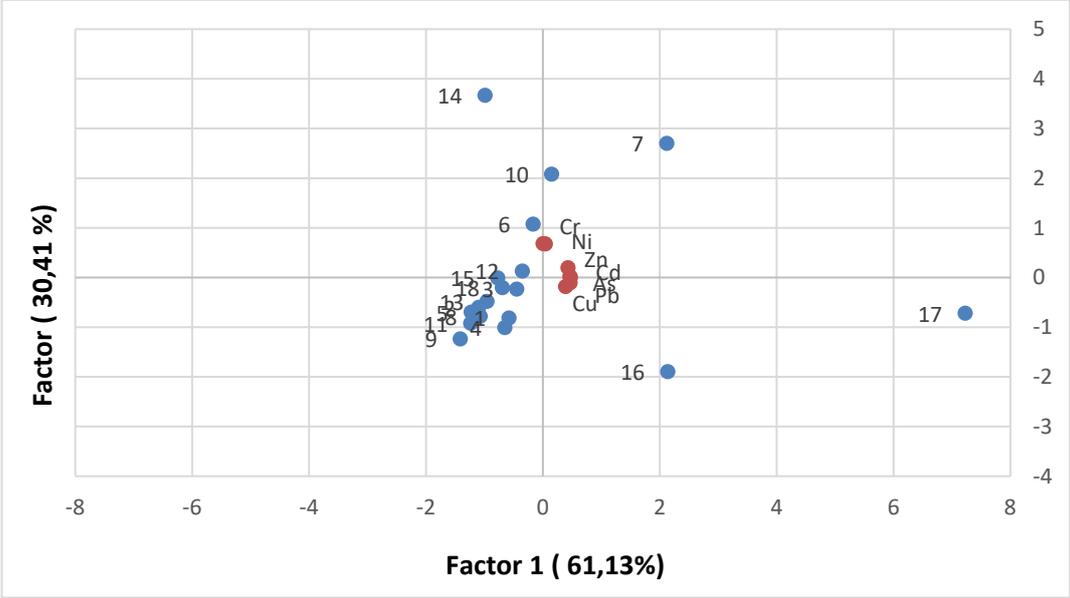


Figura 23.- Gráfico bivariado de los elementos

4.4.2. Fraccionamiento químico (B.C.R.)

Los resultados correspondientes a los elementos extraídos en las tres fracciones y la residual, que se han venido estudiando a través de métodos univariantes (elemento a elemento), también se pueden estudiar simultáneamente por medio de herramientas quimiométricas multivariantes, como hemos realizado para los componentes pseudototales. El primer paso (aunque es 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 18, con los valores significativos en negrita.

**Tabla 18.- Matriz de correlación**

	Cr	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Pb
Cr	<b>1</b>						
Ni	0,979	<b>1</b>					
Cu	0,082	0,134	<b>1</b>				
Zn	0,345	0,405	0,693	<b>1</b>			
As	0,219	0,267	0,892	0,858	<b>1</b>		
Cd	-0,002	0,051	0,381	0,504	0,474	<b>1</b>	
Pb	0,061	0,148	0,760	0,827	0,809	0,522	<b>1</b>

Posteriormente, se muestra la tabla con los valores propios ( $\lambda$ ) y el porcentaje de varianza o información descrito por cada una de las nuevas variables. El cálculo de los valores propios reside en que a partir de ellos se conoce la cantidad de varianza o información que explicará cada una de las nuevas variables o factores.

**Tabla 19.- Valores propios y porcentaje de varianza**

<b>Número</b>	<b>Valor Propio</b>	<b>%Varianza</b>	<b>% Var. Acumulado</b>
1	3,916	55,95	55,95
2	1,883	26,90	82,85
3	0,693	9,90	92,75
4	0,284	4,06	96,81
5	0,151	2,16	98,98
6	0,054	0,77	99,76
7	0,016	0,23	100

Se observan dos factores significativos, con valores propios mayores a la unidad, es decir que explican más información que una sola variable original. Entre estos dos factores se explica un 82,85% de toda la información de la tabla de datos original. Para resumir la tabla anterior, existe el mencionado anteriormente Gráfico de Sedimentación o de Scree, en el que vamos a representar el valor propio frente al nº de factor, y permite visualizar la enorme cantidad de información que explica el primer y segundo factor.

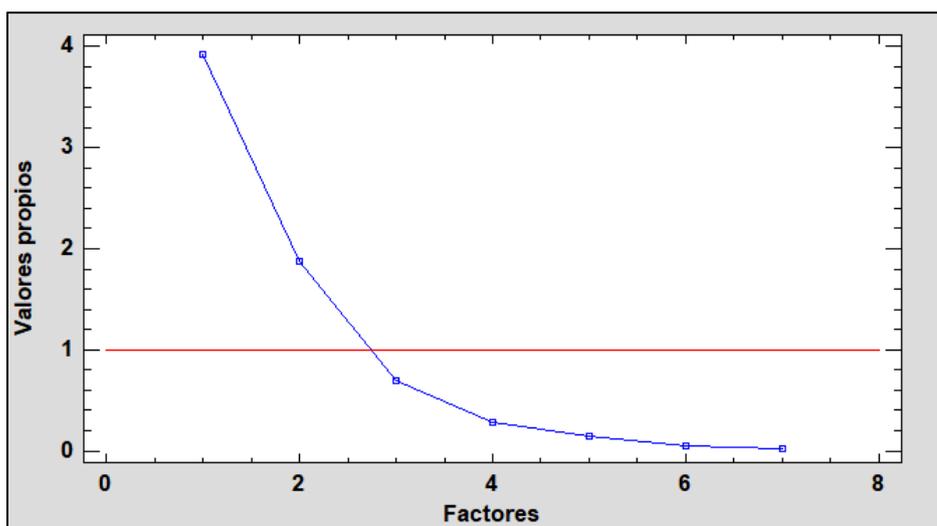


Figura 23.- Gráfico de Scree o de sedimentación.

La tabla 20, se encarga de mostrar la matriz de cargas (*loadings*) de los contenidos totales, en la que se observa la participación de las variables antiguas en las nuevas, como números comprendidos entre +1 y -1, y que se interpretan como el coeficiente de correlación, los valores que toman los factores para cada una de las variables.

Tabla 20. Matriz de Cargas

Elemento	Factor o componente						
	1	2	3	4	5	6	7
<i>Cr</i>	0,368	<b>-0,922</b>	0,043	-0,055	-0,018	0,012	0,090
<i>Ni</i>	0,433	<b>-0,892</b>	0,058	-0,016	-0,073	-0,004	-0,089
<i>Cu</i>	<b>0,846</b>	0,253	-0,316	-0,316	-0,090	-0,113	0,003
<i>Zn</i>	<b>0,933</b>	-0,024	-0,001	0,262	0,222	-0,108	0,000
<i>As</i>	<b>0,940</b>	0,136	-0,178	-0,122	0,150	0,167	-0,010
<i>Cd</i>	<b>0,490</b>	0,281	0,444	-0,140	-0,013	-0,005	0,002
<i>Pb</i>	<b>0,881</b>	0,273	-0,051	0,280	-0,257	0,045	0,012
Valor Propio	3,917	1,883	0,693	0,284	0,152	0,055	0,016
% Varianza	55,955	26,902	9,901	4,061	2,169	0,779	0,233
%Var.acumulado	55,955	82,857	92,758	96,819	98,988	99,767	100

En dicha tabla aparecen remarcados los valores máximos (en valor absoluto) de cada elemento en cada uno de los factores, observándose que la mayoría de ellos aparecen concentrados en el primer (55,96%) y segundo factor (26,90%). Al igual que antes, también

se puede llevar a cabo la representación gráfica de la matriz de cargas, en este caso se muestra solo la representación de los dos primeros factores (Figura 24), que como ya hemos dicho antes permitirá explicar un 82,86% de las relaciones entre los elementos analizados.

En ella se observa un distinto comportamiento entre los elementos estudiados, ya que se aprecia que se encuentran en zonas distintas del gráfico.

En la representación gráfica se aprecia cómo 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 agrupaciones diferentes, una en la que se encuentran el Cr y Ni en la parte negativa y otra más compacta en la que se encuentran Cu, Zn, As, Pb y Cd en la parte positiva.

Hay que mencionar que cuanto más concentrados se encuentren los elementos en una misma zona del gráfico, su comportamiento tenderá a ser mucho más parecido.

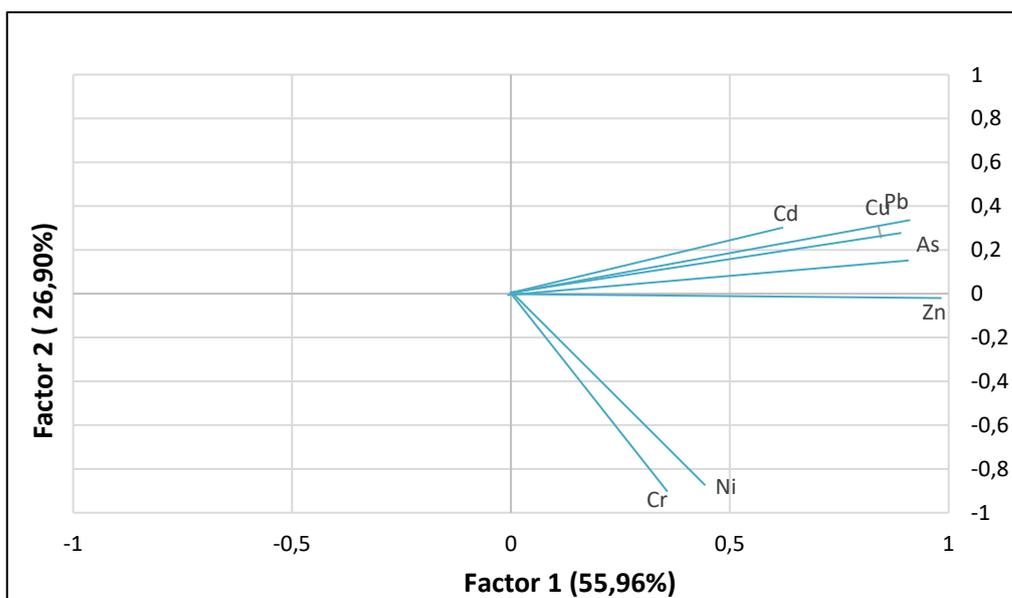


Figura 24.- Gráfico de cargas de los factores 1(x) y 2(y)

La figura 25, muestra una representación tridimensional obtenida con el programa *Statgraphics Centurion 18* de las cargas correspondientes a los tres primeros factores, lo cuales permiten llegar a explicar el 92,76% de los datos, en la que se aprecia con más claridad el comportamiento de los elementos. Se observa la diferenciación que tienen el Cr y Ni respecto del resto de elementos analizados en este trabajo.

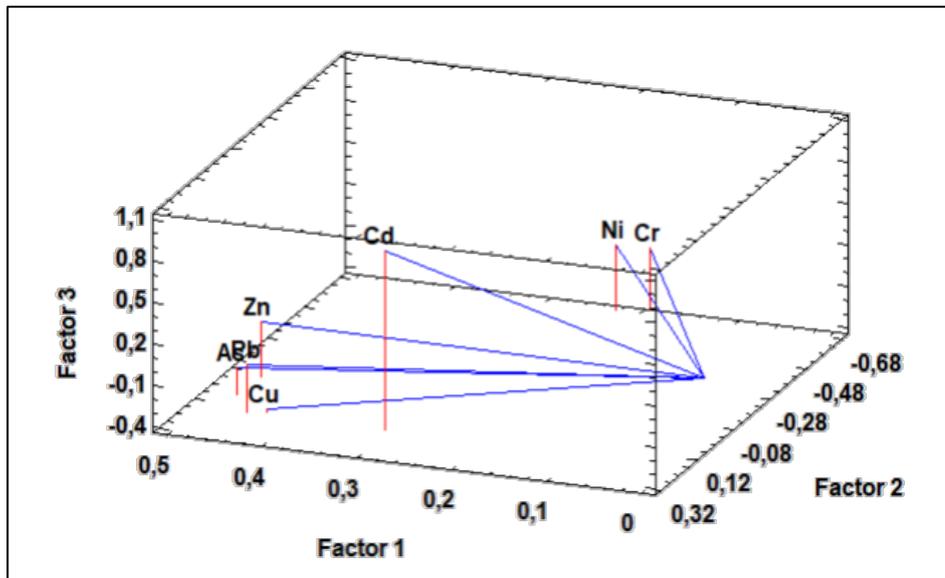
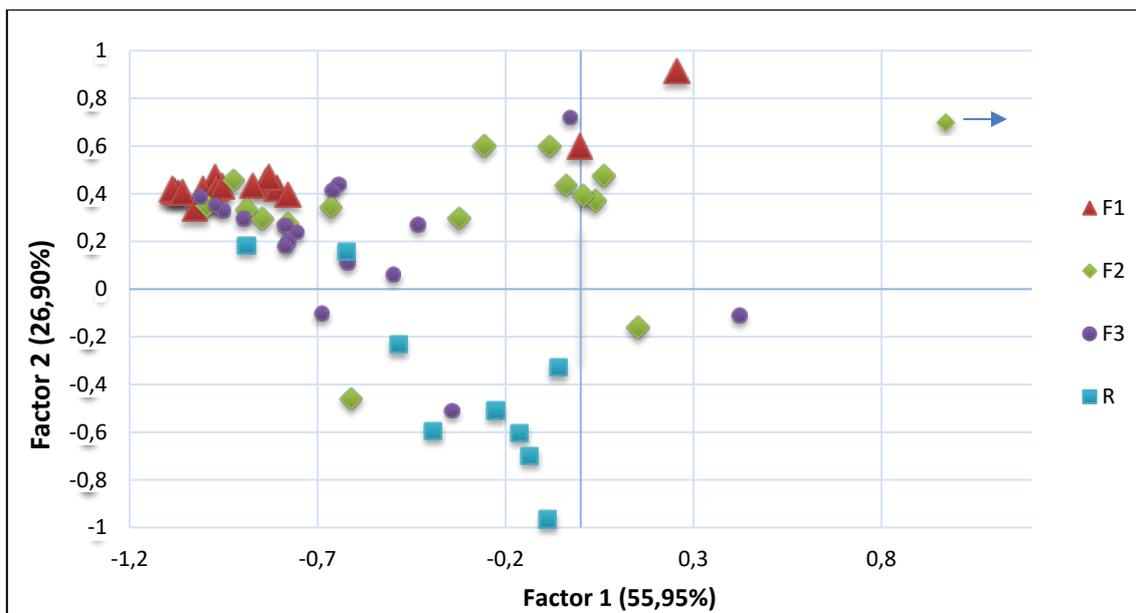


Figura 25.- Gráfica de Cargas 3D de los factores 1, 2 y 3.

Se llega a observar el comportamiento diferente para el Cd, éste como se ha visto en las tablas anteriores, se correlaciona mejor con el factor 3.

A continuación, se construye la que se define como matriz de puntuaciones (scores), que permite obtener los valores que toman las nuevas variables para cada una de las muestras. Debido a su excesivo tamaño no se incluye la matriz de puntuaciones en dicho apartado, sino que se puede encontrar en los anexos.

Sin embargo, lo que sí se expone es la representación gráfica de los dos primeros componentes (Figura 31), la cual llega a explicar como ya hemos mencionado anteriormente, el 82,86 %, de la información presente en la tabla que se encuentra en los anexos.

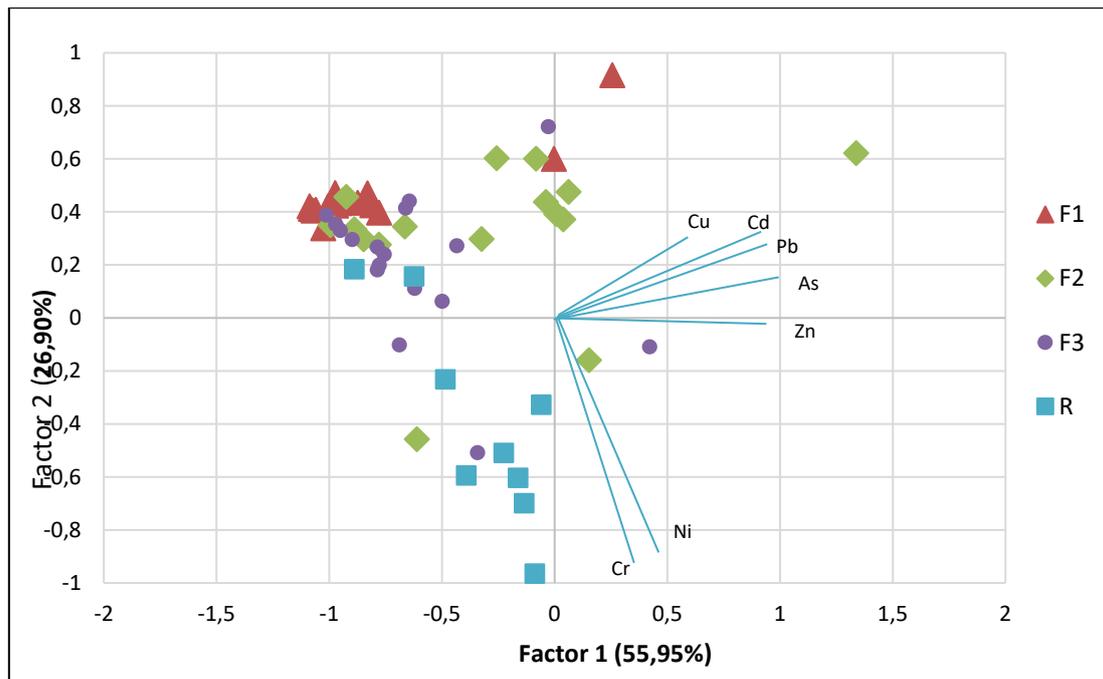


**Figura 26.- Gráfico de puntuaciones de los dos primeros factores**

Como se puede observar en la figura anterior, se ve que casi todas las muestras se concentran en la parte negativa del eje de abscisas (Factor 1; 55,95%) con solo unas pocas en la parte positiva, destacando un valor anómalo, correspondiente a la fracción 2 que se ha eliminado a la hora de la representación gráfica para no distorsionar la representación. En el caso del eje de ordenadas (Factor 2; 26,9%) las muestras están repartidas más equitativamente entre las partes positiva y negativa.

Si hablamos de fracciones, vemos que salvo alguna excepción, la más compacta es la Fracción 1, que aparece mayoritariamente a la izquierda del eje de abscisas, igual que la Fracción 3 aunque ésta aparece de un modo menos compacto. Por su parte, las Fracciones 2 y Residual se reparten arriba y abajo del eje de ordenadas.

A pesar de todo esto, como se ha mencionado en los apartados anteriores, se puede conseguir la visualización de información de forma más completa de las relaciones entre muestras y metales, a través del denominado gráfico bivariado (Figura 27), en el que se representan de manera muy visual y un mismo espacio abstracto, las cargas de variables (*metales analizados*) y las puntuaciones de las muestras (*los diferentes sedimentos*). Y al igual que se ha realizado anteriormente, la interpretación de este tipo de gráficos se realiza de forma idéntica.



**Figura 27.- Gráfico bivariado de las puntuaciones y las cargas de los dos primeros factores**

El gráfico bivariado (Figura 27) permite representar 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 representados gráficamente.

De la interpretación se puede llegar a las siguientes conclusiones; la Fracción 1 se encuentra alejada de los elementos (variables), por lo que se indica que contiene los menores valores de dichos elementos. La Fracción Residual se encuentra cercana a Cr y Ni reflejando que, en general, dicha fracción contiene las mayores concentraciones de esos metales tóxicos. Las Fracciones 2 y 3 tienen un comportamiento intermedio, estando ambas mayoritariamente lejos de las variables. Se puede observar la muestra correspondiente a la fracción 2 que está alejada del resto y contiene elevadas concentraciones de Cu, Cd, Pb, As y Zn

Hacer hincapié en que estas conclusiones se han llevado a cabo con dos factores por lo tanto el modelo de A.C.P. que hemos estado describiendo ha dejado sin explicar un 17,14% de la información, siendo esta una cantidad a tener en cuenta. Por otro lado, se llevó a cabo la repetición del ACP utilizando la rotación Varimax de los factores que, en teoría permite “limpiarlos” y permite obtener factores más puros, pero en este caso no aportó mejora alguna a la interpretación, por lo que sus resultados no se muestran en la presente memoria.

#### 4.5. Análisis de conglomerados (AC)

Como ya se ha explicado en apartados anteriores, los métodos de Análisis de Conglomerados (A.C.) no se encargan de buscar un modelo matemático para concentrar la información, sino de tratar de presentar la información en forma de dendrograma, *un diagrama en forma de árbol*, en el que tanto las variables (metales analizados) o los objetos (muestras de sedimentos) aparecen organizados en función de la similitud existente entre ellos, generando una interpretación rápida e intuitiva con el propósito de conocer la posible existencia de clases o agrupaciones en el conjunto de objetos estudiados y relacionarlos de alguna manera entre sí y de los que se conoce una serie de variables o propiedades, sin hacer ningún tipo de suposición y utilizando simultáneamente toda la información de nuestros datos. En nuestro caso, hemos empleado la *distancia euclídea* como medida de similitud y el *método de Ward* como método de conglomeración, descritas en apartados anteriores.

##### 4.5.1. Contenidos Pseudototales

En el dendrograma de la figura 28 se aprecia una agrupación de las variables análoga a la obtenida mediante el ACP, pero de forma más clara. Se observa una agrupación por parte del Cr y Ni diferenciada del resto de elementos a su vez divididos en dos subgrupos: por un lado, Cu, Zn y As y por otro Cd y Pb. Se aprecia además una ligera diferenciación en el subgrupo del Cu, al producirse inicialmente una separación del Cu respecto del Zn y As, separándose estos elementos más tarde, lo que indica una mayor correlación de estos entre sí que con el Cu.

Mientras que en el dendrograma de las muestras de sedimentos (figura 29), usando el mismo método de conglomeración, lo primero que se observa es una separación en dos grandes grupos, uno de los cuales poco después sufre otra separación en otros dos subgrupos.

Si se estudian las muestras que aquí aparecen se observa como las muestras de la rama de la derecha se encuentran las muestras 17 y 16 separadas de las demás; si se observa el gráfico de dispersión todas las muestras representadas en dicha rama se encuentran alejadas del grupo principal, presentando altas concentraciones en alguno de los elementos.

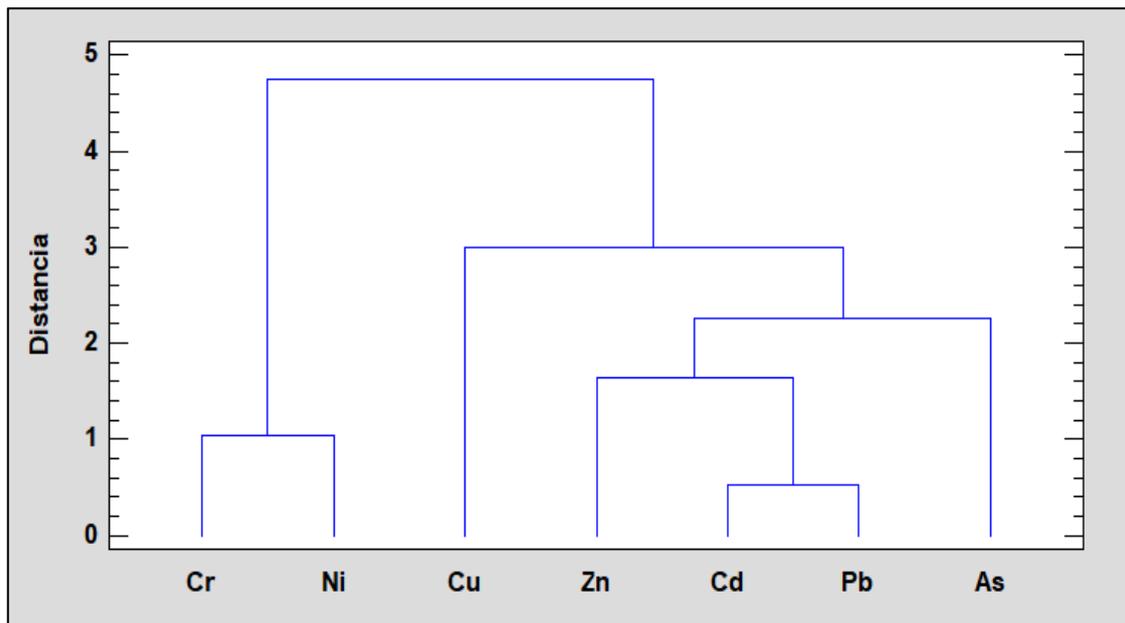


Figura 28.- Dendrograma de los elementos estudiados en los contenidos pseudototales

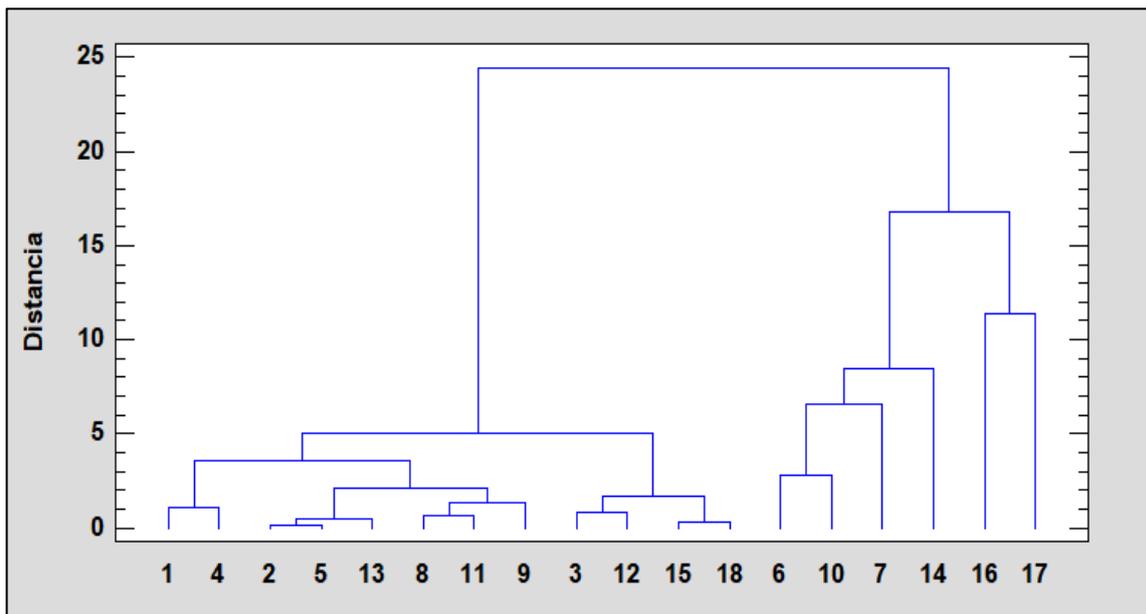


Figura 29.- Dendrograma de las muestras de componentes pseudototales



se vuelve a apreciar las dos agrupaciones diferentes que hemos mencionado anteriormente en el gráfico de cargas del A.C.P (Figura 20); una correspondiente al Cr y Ni y otra en la que se encuentran el Cu, As Zn, Pb y Cd Pb. Si analizamos detalladamente las agrupaciones, se observa que las variables Cr y Ni aparte de diferenciarse del resto se asemejan mucho entre sí. Por otro lado, dentro de la otra agrupación, tenemos que se asemejan más entre ellos al Cu y el As y por otro lado el Zn y Pb, mientras que se confirma el comportamiento diferenciado del resto del Cd.

La Figura 31 presenta el dendrograma correspondiente a las muestras de sedimentos, y al igual que antes, también se ha utilizado la distancia euclídea de variables autoescaladas y el método de Ward, se pueden apreciar las mismas tendencias vistas en el A.C.P. (Figura 26). Así, se visualizan una agrupación bastante compacta tanto para la Fracción 1 (1) a la izquierda del dendrograma como para la Fracción Residual (R) ubicadas en el perfil derecho. Mientras que las Fracciones 2 y 3 (2 y 3 respectivamente nombradas en el dendrograma) también se encuentran de una forma menos compacta pero agrupadas.

A la vista de los resultados expuestos, se observa gran similitud entre los dendrogramas obtenidos para el análisis de los contenidos pseudototales y los obtenidos del fraccionamiento químico B.C.R.

El A.C. de forma general, es capaz de confirmar todas las conclusiones extraídas anteriormente en el A.C.P., lo que pone de manifiesto su complementariedad. Hay que recordar que 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 (82,85%) de la tabla de datos original, mientras que el A.C. sí que representa toda la información, por medio del parecido entre objetos o variables.

## 5. CONCLUSIONES

Se determinaron las concentraciones de los metales pesados Cr, Cd, Ni, Cu, Zn, As y Pb en muestras de suelos no alterados, aquellos, no utilizados con fines agrícolas, ganaderos o industriales de la zona de Zacatecas (México).

El uso de la técnica de Difracción de Rayos X para la caracterización cristalográfica determinó las diferentes fases cristalinas, de donde se pudo afirmar que el cuarzo se encuentra en la mayoría de las muestras como componente principal y también la existencia de calcita en algunas ocasiones.

Los contenidos pseudototales determinados mediante la técnica de ICP-MS en los extractos resultantes de la norma USEPA-3051A muestran altas concentraciones de Zn y en menor medida, de Cu y Pb, respecto del resto. Por el contrario, el Cd aparece en bajas concentraciones.

En el caso del fraccionamiento químico, llevado a cabo mediante el procedimiento BCR, se obtuvieron los siguientes resultados:

- **Fracción 1 (HAcO):** Cr de 0,02-0,3 mg/kg; Ni de 0,1-2,0 mg/kg; Cu de 0,1-157,7 mg/kg; Zn de 0,8-71,6 mg/kg; As de 0,02-13,8 mg/kg; Cd de 0,01-1,2 mg/kg; Pb de 0,04-1,8 mg/kg.
- **Fracción 2 (NH<sub>2</sub>OH):** Cr de 0,7-7,2 mg/kg; Ni de 0,5-11,6mg/kg; Cu de 0,7-272,0 mg/kg; Zn de 1,1-98,9 mg/kg; As de 0,2-22,8mg/kg; Cd de 0,02-4,2 mg/kg; Pb de 0,4-104,7 mg/kg.
- **Fracción 3 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-NH<sub>4</sub>AcO):** Cr de 0,6-9,6 mg/kg; Ni de 0,4-9,4 mg/kg; Cu de 0,9-141,9 mg/kg; Zn de 6,8-104,5mg/kg; As de 0,1-9,0mg/kg; Cd de 0,02-0,5mg/kg; Pb de 1,2-17,1 mg/kg.
- **Fracción Residual:** Cr de 3,6-104,3 mg/kg; Ni de 1,8-60,2 mg/kg; Cu de 1,8-593,3 mg/kg; Zn de 0-431,3 mg/kg; As de 1,7-194,9 mg/kg; Cd de 0,006-2,4 mg/kg; Pb de 0-364,7nmg/kg.

Se observa que todos los elementos se encuentran mayoritariamente en la Fracción Residual que, es la menos disponible y la que menos peligrosidad medioambiental tiene. Por lo tanto, se puede concluir que la peligrosidad medioambiental de las muestras es prácticamente inexistente, en base a su poca movilidad.

Por último, en cuanto a los estudios multivariantes llevados a cabo; Análisis en Componentes Principales (ACP) y Análisis de Conglomerados (AC), nos han permitido visualizar la diferente composición y características de los suelos estudiados, en cuanto a la determinación de los contenidos pseudototales y los obtenidos del B.C.R.

En el caso de los contenidos pseudototales, el A.C.P. muestra una elevada correlación entre todos los elementos, ya que aparecen concentrados en dos factores significativos. El primero (Cu, Zn, As y Pb) explica el 61,1 % de la información y el segundo (Cr y Ni) explica un 30,4 %. El Cd aparece repartido entre los factores 1 y 4. El gráfico de puntuaciones y el bivariado (cargas y puntuaciones) muestran la presencia de algunas muestras (7, 14, 16 y 17) con elevados contenidos en los elementos analizados. El A.C. confirma estas apreciaciones.

Para el fraccionamiento B.C.R. el A.C.P. muestra agrupaciones similares para los elementos estudiados: Cu, Zn, As y Pb aparecen en un primer factor explicando el 56,0 % de la información mientras que Cr y Ni están en un segundo factor que lleva el 26,9 % de información. El Cd vuelve a estar repartido. El gráfico de puntuaciones y el bivariado muestran que la Fracción 1 es la más compacta y contiene menores concentraciones de los elementos, mientras que la Residual tiende a contener Cr y Ni, mientras que la 2 y la 3 tiene un comportamiento intermedio. El A.C. conduce a las mismas conclusiones.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Duffus, J.H., 2002. Heavy metals: A meaningless term, *Pure Applied Chemistry*, 74: 793-807.
- [2] Hodson, M.E. (2004). Heavy metals - geochemical bogey men, *Environmental Pollution*, 129: 341-343.
- [3] Pardo, R. (2010). Los metales pesados y el medio ambiente, *Alkaid*, 7: 36-43.
- [4] Galán Huertos E., Fernández Caliani J.C., González Díez I., Aparicio Fernández P., Romero Baena A. J.(2008). Influence of Geological Setting on Geochemical Baselines of Trace Elements in Soils. Application to Soils of South-West Spain. *Journal of Geochemical Exploration*, 98 (3): 89-106.
- [5] Fergusson, J.E. 1990. The heavy elements: Chemistry environment impact and health effects. Pergamon Press. London, UK.
- [6] Zhang, H., Worton, D. R., Lewandowski, M., Ortega, J., Rubitschun, C. L., Park, J. H., Surratt, J. D. (2012). Organosulfates as tracers for secondary organic aerosol (SOA) formation from 2-methyl-3-buten-2-ol (MBO) in the atmosphere. *Environmental Science & Technology*, 46(17): 9437-9446.
- [7] Cala-Rivero, V., J. Rodríguez-Sanchidrian y A. Guerra-Delgado. 1985. Contaminación de metales pesados en suelos de la Vega de Aranjuez. (I) Pb, Cd, Cu, Zn, Ni y Cr. *Anal. Edaf. Agrobiol.* 32: 1595-1608
- [8] Abdelrahman, H.A. y H. Al-Ajmi. 1994. Heavy metals in some water and wastewater irrigated soils of Oman. *Commun. Soil. Sci. Plant Anal.* 25: 605-613.
- [9] Kabata-Pendias, A. 1995. Agricultural problems related to excessive trace metal contents of soils. pp. 3-18. In: Solomons, W., U. Förstner y P. Mader. *Heavy metals: Problems and solutions*. Springer Verlag. Berlin, Germany.
- [10] Cajuste, L.J. y R.J. Laird. 2000. The relationships between the phytoavailability and the extractability of heavy metals in contaminated soils. pp. 189-198. In: Iskandar, I.K. (ed.). *Environmental restoration of metals-contaminated soils*. Lewis Publishers. New York.

- [11] Cartaya, O. E., Reynaldo, I., Peniche, C., & Garrido, M. (2011). Empleo de polímeros naturales como alternativa para la remediación de suelos contaminados por metales pesados. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 27(1): 41-46.
- [12] World Fertilizer use Manual, 1992, IFA, París, 632p. Página Web <http://www.fertilizer.org> , también disponible en versión CD. (FAO)
- [13] Manual de Fertilizantes. National Plant Food Institute 1990. Ed Limusa. Noriega. p.17.
- [14] OMS. (1979). Plomo: criterios de salud ambiental. N° 18. Washington. USA
- [15] Flores-González, E., Tornero-Campante, M. A., Sandoval-Castro, E., Pérez-Magaña, A., & Gordillo-Martínez, A. J. (2011). Biodisponibilidad y fraccionamiento de metales pesados en suelos agrícolas enmendados con biosólidos de origen municipal. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 27(4), 290-301.
- [16] Zeev, Alfassi, B. (2007). Instrumental neutron activation analysis (INAA), in *Determination of Trace Elements* (ed Z. B. Alfassi), Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, Germany. doi: 10.1002/9783527615773.ch07.
- [17] 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 Pollution*, 189, 291-333.
- [18] Rauret, G (1998) Extraction procedures for the determination of heavy metals in contaminated soil and sediment, *Talanta*, 46: 449-455.
- [19] Henke K.R., (2009) *Arsenic: Environmental Chemistry, Health Threats and Waste Treatment*, Wiley Online library.
- [20] 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.
- [21] 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.

- [22] 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*.
- [23] 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.
- [24] Quevauviller Ph., Rauret G., Griepink B. (1993) Single and Sequential Extraction in Sediments and Soils, *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 51: 231–235.
- [25] 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.
- [26] 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.
- [27] 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.
- [28] 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.
- [29] 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.

- [30] Pardo R., Vega M., Debán L., Cazorro 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.
- [31] 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.
- [32] 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.
- [33] 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.
- [34] 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.
- [35] Bermúdez Polonio, J. (1981) Métodos de difracción de rayos X. Principio y aplicaciones. Pirámide. ISBN: 84-368-0180-6.
- [36] Müller, R.O. (1972) Spectrochemical Analysis by X-Ray Fluorescence. Hilger. ISBN: 85-274-201-0.
- [37] Skoog, D. A., Holler, F. J., Nieman, T., Settle, F. A., Rubinson, K. A., Rubinson, J. F., & Chasteen, T. G. (2002). *Principios de Análisis Instrumental*. México.
- [38] 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.
- [39] Pardo R., Helena B.A., Cazorro 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.

- [40] 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.
- [41] 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.
- [42] 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*.
- [43] Alomary AA, Belhadj. S (2007). *Environ Monit Assess.* Determination of heavy metals (Cd, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb, Zn) by ICP-OES and their speciation in Algerian Mediterranean Sea sediments after a five-stage sequential extraction procedure. Dec;135(1-3):265-80. Epub 2007 Mar 7.
- [44] 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.
- [45] Ramis G. y García M.C. (2001) *Quimiometría*. Editorial Síntesis. ISBN: 8477389047.
- [46] 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.
- [47] 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: 265270.
- [48] Helena B.A., Pardo R., Vega M., Barrado E., Fernández J.M., Fernández L. (2000) Temporal evolution of groundwater composition in an alluvial aquifer (Pisuerga River, Spain) by principal component analysis, *Wat. Res.*, 34: 807-816.
- [49] Simeonov V., Massart D.L., Andreev G., Tsakovski S. (2000) Assessment of metal pollution based on multivariate statistical modeling of 'hot spot' sediments from the Black Sea, *Chemosphere*, 41: 1411-1417.
- [50] Singh K.P., Malik A., Sinha S., Mohan D., Singh V.K. (2007) Exploring groundwater hydrochemistry of alluvial aquifers using multi-way modeling, *Anal. Chim. Acta*, 596: 171182.

[51] Cid F.D., Antón R.I., Pardo R., Vega M., Caviedes-Vidal E. (2011) Modeling spatial and temporal variations in the water quality of an artificial water reservoir in the semiarid Midwest of Argentina, *Anal. Chim. Acta*, 705: 243-52.

[52] Wang ZM., Chen LD., Zhang HP., Sun RH. (2014) Multivariate Statistical Analysis and Risk Assessment of Heavy Metals Monitored in Surface Sediment of the Luan River and its Tributaries, China, *Hum. Ecol. Risk Assess.*, 20: 1521-1537.

[53] Singh K.P., Malik A., Sinha S., Mohan D., Singh V.K. (2007) Exploring groundwater hydrochemistry of alluvial aquifers using multi-way modeling, *Anal. Chim. Acta*, 596: 171182.

## 7. ANEXOS

**Tabla X. Contenidos de la Fracción 1 (HAcO) (mg/Kg)**

	Cr	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Pb
1	0,016	0,240	0,205	6,687	0,204	0,163	0,474
5	0,050	0,485	0,073	3,168	0,194	0,028	0,033
6	0,067	0,643	0,398	19,506	0,289	0,206	0,428
9	0,040	0,626	0,613	28,835	0,137	0,120	0,610
11	0,092	0,266	0,126	3,580	0,095	0,012	0,009
13	0,073	2,024	0,719	17,427	0,201	0,300	0,131
15	0,330	2,027	1,500	71,636	0,465	0,919	1,804
16	0,048	0,519	0,574	0,840	4,658	0,025	0,004
18	0,040	0,182	0,512	2,917	0,024	0,015	0,022
19	0,196	1,324	0,532	3,724	0,112	0,140	0,177
20	0,075	0,533	0,576	2,660	0,346	0,040	0,251
21	0,143	0,629	0,747	17,222	0,445	0,249	0,337
23	0,080	0,814	0,426	6,689	0,356	0,143	0,074
24	0,174	1,461	1,184	5,447	0,025	0,028	0,041
26	0,185	1,008	0,709	10,172	2,040	0,202	0,215
28	0,054	0,130	157,710	22,372	13,824	0,321	1,298
29	0,049	0,296	5,422	12,995	11,988	1,220	0,267
30	0,084	0,631	0,740	9,254	0,387	0,134	0,240

**Tabla X. Contenidos de la Fracción 2 (NH<sub>2</sub>OH) (mg/Kg)**

	Cr	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Pb
1	2,583	0,890	5,370	13,492	1,988	0,184	58,063
5	2,147	1,980	4,676	18,773	0,442	0,061	7,051
6	2,205	3,099	3,662	53,365	0,431	0,402	45,750
9	1,927	1,424	1,833	36,756	1,499	0,341	50,764
11	2,042	1,558	2,145	14,388	0,442	0,036	7,368
13	2,307	5,176	7,477	42,004	0,473	0,599	35,269
15	4,333	5,695	12,053	98,859	2,547	0,771	104,685
16	0,669	0,494	0,655	1,077	3,654	0,195	0,432
18	1,767	0,661	1,560	3,639	0,190	0,017	5,091
19	4,418	11,647	11,910	33,669	1,160	0,308	48,936
20	1,920	1,431	3,962	4,261	0,522	0,063	9,347
21	4,226	2,974	6,233	47,192	0,901	0,366	42,974
23	2,307	1,781	5,570	19,502	0,425	0,151	13,507
24	7,247	10,345	8,309	10,243	0,154	0,067	5,390
26	2,390	3,382	4,881	40,416	0,869	0,208	24,380
28	1,807	0,676	271,958	31,014	19,857	0,388	82,471
29	0,740	1,978	39,574	72,691	22,780	4,231	42,507
30	2,615	3,303	6,446	38,181	0,567	0,255	53,101

**Tabla X. Contenidos de la Fracción 3 (NH<sub>4</sub>AcO) (mg/Kg)**

	Cr	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Pb
1	1,6828	0,7727	6,0702	14,0290	6,1542	0,0564	17,1023
5	1,9487	1,4483	2,2190	12,2152	0,7615	0,0514	2,8702
6	3,3000	1,9897	6,5819	50,4429	0,5124	0,1546	9,5588
9	1,9644	0,8898	6,6244	21,2786	1,3293	0,1265	13,9710
11	1,7375	0,9573	3,6147	8,5450	0,5458	0,0308	2,5170
13	5,6697	2,8956	5,2261	24,8796	1,2055	0,1224	7,7238
15	9,3361	6,4297	8,2974	104,4594	2,2776	0,4809	15,6061
16	1,3290	2,7457	4,4612	14,2984	1,6823	0,0935	5,2797
18	0,7669	0,4405	0,9217	6,7772	0,7195	0,0235	1,2346
19	5,7780	5,6145	4,1062	17,2558	0,1149	0,0580	6,6608
20	1,6047	0,6124	3,5481	8,7256	0,1576	0,0242	2,2731
21	8,4943	2,8426	5,9003	23,2374	1,0912	0,1638	16,5055
23	2,8193	2,6841	5,5512	18,7952	0,5951	0,0856	2,9205
24	9,6482	9,4271	8,4883	46,9604	0,2725	0,0829	1,4615
26	3,2128	2,7457	3,4892	15,8645	0,9845	0,0654	5,2823
28	0,6901	0,6129	121,0258	25,5988	6,8737	0,1162	10,1692
29	0,5991	0,8001	141,8724	30,4752	9,0361	0,1234	11,7903
30	3,1245	2,3154	6,0173	13,6689	1,2447	0,0799	8,7773

**Tabla X. Contenidos de la Fracción 4 (Residual) (mg/Kg)**

	Cr	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Pb
1	11,398	6,702	9,9490	54,8361	11,6308	0,1184	4,4069
5	16,729	7,055	11,3295	55,8765	3,2345	0,0344	6,0048
6	21,993	10,391	21,5977	26,2875	11,3168	0,0387	4,0806
9	5,188	2,175	20,4646	26,9435	3,0815	0,0396	0,9639
11	14,577	8,114	5,2175	29,9567	4,0071	0,0647	3,4528
13	52,635	24,368	20,1060	94,9502	20,6838	0,2345	7,1708
15	76,816	41,749	36,1540	187,7840	54,3502	0,7187	57,7739
16	11,913	9,135	8,9482	27,7300	12,7053	0,1015	2,7666
18	3,941	1,812	1,8041	9,3104	2,8715	0,0061	1,7816
19	63,935	37,400	56,4542	192,5245	29,9193	0,1294	14,0668
20	12,273	4,181	3,5186	20,1393	10,2706	0,0676	2,2508
21	24,506	14,602	18,5279	63,1018	11,0236	0,0511	14,0155
23	19,938	7,272	9,1232	38,8934	10,1250	0,1046	3,1870
24	104,320	60,178	55,2960	-7,2811	1,7192	0,1168	0,8993
26	27,091	15,056	11,4039	24,6137	11,6259	0,1551	4,7922
28	3,639	2,415	331,4767	80,1480	94,7777	0,3201	18,8324
29	15,534	15,735	593,2642	431,3113	194,9058	2,3537	364,6646
30	21,330	13,446	34,7640	39,7057	7,3546	0,0832	0,0000

**Tabla X. Contenidos de la Fracción de Pseudototales (mg/Kg)**

	Cr	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Pb
1	15,680	8,606	21,594	89,044	19,977	0,522	80,046
5	20,875	10,968	18,297	90,032	4,632	0,175	15,960
6	27,566	16,123	32,240	149,602	12,550	0,802	59,817
9	9,120	5,115	29,536	113,813	6,047	0,627	66,309
11	18,446	10,895	11,103	56,470	5,090	0,143	13,346
13	60,690	34,464	33,528	179,262	22,564	1,256	50,295
15	90,816	55,898	58,004	462,738	59,640	2,890	179,869
16	13,960	12,894	14,638	43,945	22,699	0,416	8,482
18	6,515	3,095	4,798	22,644	3,804	0,061	8,130
19	74,327	55,986	73,002	247,174	31,306	0,636	69,840
20	15,873	6,759	11,605	35,786	11,297	0,194	14,122
21	37,370	21,049	31,408	150,752	13,460	0,830	73,833
23	25,144	12,552	20,670	83,880	11,502	0,484	19,689
24	121,397	81,412	73,277	55,369	2,171	0,296	7,792
26	32,879	22,194	20,482	91,067	15,520	0,631	34,669
28	6,190	3,835	882,170	159,132	135,333	1,146	112,770
29	16,923	18,810	780,133	547,473	238,709	7,928	419,229
30	27,155	19,696	47,967	100,810	9,553	0,552	51,874

**Tabla X. De Componentes Principales**

<i>Fila</i>	<i>Etiq</i>	<i>Componente</i> <b>1</b>	<i>Componente</i> <b>2</b>	<i>Componente</i> <b>3</b>	<i>Componente</i> <b>4</b>	<i>Componente</i> <b>5</b>	<i>Componente</i> <b>6</b>	<i>Componente</i> <b>7</b>
1	F1	-0,973745	0,471079	-0,00744715	-0,0599798	0,0381504	0,0861099	0,0114409
2	F1	-1,07069	0,404853	-0,213397	-0,0328858	0,0138701	0,117166	-0,00847055
3	F1	-0,83822	0,455025	0,0606882	0,0225416	0,152385	-0,0147837	-0,0135562
4	F1	-0,809209	0,42454	-0,0729902	0,141	0,241671	-0,0884731	-0,0140229
5	F1	-1,08168	0,411494	-0,238501	-0,0217029	0,0214483	0,112	0,0085168
6	F1	-0,779416	0,397018	0,213508	-0,0456378	0,10337	-0,010416	-0,108671
7	F1	-0,00324072	0,599821	1,16053	0,133733	0,565553	-0,445891	-0,0796416
8	F1	-1,00613	0,42036	-0,255403	-0,0939551	0,0562038	0,254819	-0,0242468
9	F1	-1,08718	0,420708	-0,236046	-0,0297361	0,0143752	0,11302	0,0127243
10	F1	-0,986225	0,385442	-0,0346771	-0,0833507	-0,00772986	0,102938	-0,0585191
11	F1	-1,05991	0,407662	-0,198196	-0,0450683	0,0051763	0,122883	-0,0105372
12	F1	-0,8304	0,469594	0,123576	-0,0206752	0,130811	0,0034798	-0,00933312
13	F1	-0,970544	0,423641	-0,0352267	-0,0605634	0,0357459	0,0872746	-0,0280072
14	F1	-1,02699	0,337763	-0,208369	-0,024026	0,0115057	0,0871409	-0,0712262
15	F1	-0,87392	0,434341	0,0417421	-0,0744555	0,0841141	0,102991	-0,0406279
16	F1	0,255148	0,915471	-0,559989	-1,17674	-0,0428853	-0,536684	0,0304038
17	F1	-0,140854	0,892058	1,50339	-0,625628	0,201635	0,288213	-0,0014408
18	F1	-0,955478	0,432732	-0,053422	-0,0348944	0,0615882	0,0678812	-0,0147043
19	F2	-0,257278	0,602272	-0,0765413	0,572342	-0,724625	0,298657	0,183752
20	F2	-0,780237	0,276577	-0,176003	0,110548	0,0196816	0,0083028	-0,0143225
21	F2	0,0612566	0,475286	0,310185	0,685157	-0,238076	-0,109775	-0,00114813
22	F2	-0,0828773	0,600254	0,196884	0,641566	-0,412661	0,0844131	0,110248
23	F2	-0,847925	0,296311	-0,208238	0,108423	-0,0105893	0,0592483	0,0103613
24	F2	0,0377197	0,371815	0,625931	0,350255	-0,257315	-0,0966525	-0,160152
25	F2	1,33719	0,621512	0,772258	1,46764	-0,707659	-0,220045	0,0293933
26	F2	-0,924736	0,456783	0,0156998	-0,159181	0,0265992	0,221813	0,00960303
27	F2	-0,994748	0,349853	-0,236223	0,0124823	-0,0648291	0,131273	0,057457

28	F2	0,151781	-0,159802	0,186481	0,499359	-0,643911	0,0247156	-0,510788
29	F2	-0,889125	0,33429	-0,178624	0,0228352	-0,138346	0,137123	0,0189496
30	F2	0,00671127	0,392018	0,249105	0,585756	-0,258384	-0,0671543	0,0795949
31	F2	-0,665128	0,344355	-0,0513616	0,143196	-0,069679	0,0213636	0,0216755
32	F2	-0,611436	-0,45761	-0,10472	-0,0587012	-0,222523	0,0383112	-0,403237
33	F2	-0,324316	0,297781	0,0334051	0,409131	-0,0491896	-0,0850452	-0,0640828
34	F2	1,83601	1,44727	-1,09875	-1,05321	-1,34694	-0,731632	0,246133
35	F2	2,6929	2,09511	5,86449	-1,34517	0,0389923	-0,014816	0,0422204
36	F2	-0,0392063	0,437154	0,0642963	0,685803	-0,490397	0,0337914	0,0123817
37	F3	-0,644398	0,440179	-0,259522	0,134437	-0,0640921	0,237131	0,0563138
38	F3	-0,897556	0,295172	-0,1822	0,0299944	0,0386356	0,0650732	0,00433234
39	F3	-0,433888	0,271346	-0,0415095	0,338965	0,275231	-0,236388	0,03945
40	F3	-0,660584	0,414042	-0,108642	0,163781	-0,0296893	0,0301245	0,0689521
41	F3	-0,950767	0,329609	-0,221697	0,0000287776	0,0125198	0,0796301	0,0301803
42	F3	-0,620539	0,111038	-0,0750876	0,107615	0,0488334	-0,0123809	0,0608641
43	F3	0,421859	-0,109794	0,479428	0,632044	0,611431	-0,596049	-0,0173741
44	F3	-0,78643	0,26652	-0,130407	0,0319748	0,00689675	0,065779	-0,107249
45	F3	-1,01232	0,387261	-0,227394	-0,00194678	0,0361037	0,106156	0,0241181
46	F3	-0,688871	-0,10224	-0,139796	0,0697201	-0,069927	0,0164222	-0,126966
47	F3	-0,971449	0,352078	-0,230946	0,00742105	0,0193384	0,0674716	0,049672
48	F3	-0,498529	0,062105	-0,0170293	0,155071	-0,104169	0,0367385	0,195381
49	F3	-0,777773	0,198505	-0,131546	0,0397212	0,06245	-0,0100591	-0,045639
50	F3	-0,341713	-0,509036	-0,0774288	0,180484	0,196982	-0,252999	-0,250647
51	F3	-0,786241	0,180689	-0,15836	0,0593863	0,0108365	0,0464781	-0,0318716
52	F3	-0,0278384	0,721119	-0,666482	-0,653186	-0,143921	-0,50327	0,0459429
53	F3	0,17449	0,772531	-0,764686	-0,757647	-0,146785	-0,591414	0,0324128
54	F3	-0,755991	0,23916	-0,157036	0,056741	-0,0553546	0,0712155	0,00231147
55	R	-0,0602063	-0,327857	-0,140262	0,152082	0,439364	0,010435	-0,0162827
56	R	-0,162772	-0,60318	-0,191203	0,248735	0,283049	-0,210726	0,195473
57	R	-0,0885837	-0,964887	-0,254052	-0,200824	0,0430558	0,18487	0,141856
58	R	-0,623862	0,156582	-0,281752	-0,0290612	0,172065	-0,0861543	0,0754337
59	R	-0,392546	-0,59415	-0,119512	0,0353948	0,082398	0,0255896	0,0263961
60	R	1,37658	-2,93493	0,158137	0,0225019	0,448043	-0,015883	0,351606
61	R	4,17416	-4,45637	0,682299	0,550454	0,657698	0,325786	0,107435
62	R	-0,226438	-0,509322	-0,149768	-0,0963699	0,175405	0,246798	-0,175444
63	R	-0,889176	0,183821	-0,257745	-0,0142772	0,0492252	0,150226	0,0474413
64	R	2,91369	-4,13485	-0,12366	0,524299	1,05896	-0,681131	-0,119951
65	R	-0,485088	-0,231904	-0,191373	-0,0788035	0,182055	0,278798	0,190242
66	R	0,404052	-1,30567	-0,195964	0,206979	0,17205	-0,0521576	-0,032414
67	R	-0,135755	-0,698989	-0,115413	-0,0200398	0,251882	0,116886	0,280289
68	R	1,59479	-7,25346	0,387563	-1,323	-1,61377	0,124394	-0,0850383
69	R	0,0762232	-1,43709	0,0133628	-0,23661	-0,058906	0,26702	0,0147298
70	R	3,29304	1,36265	-1,97616	-2,41	0,950282	0,352131	-0,140586
71	R	13,9686	3,07699	-1,12683	0,743649	-0,213853	0,287426	-0,0491536
72	R	0,0539914	-1,13249	-0,185374	-0,215927	0,0785306	-0,127526	-0,090336