

# Evaluación de dos métodos de extracción simple para determinar la bioaccesibilidad de arsénico y plomo en muestras de residuos mineros y metalúrgicos

López Flavio, Instituto Nacional de Investigaciones Geológico Minero Metalúrgico, Flavio\_Lopez@inigemmm.gob.ec, +593-987405993

Villalobos Mario, Instituto de Geología, Universidad Nacional Autónoma de México, mariov@geologia.unam.mx, +52-1-5622 4324, ext. 123

**Abstract**—La bioaccesibilidad es una técnica *in vitro* que simula las extracciones de elementos potencialmente tóxicos (EPT) en las fases gástrica (FG) e intestinal (FI) de un ser vivo por ingestión incidental de material contaminado. Los reactivos químicos usados en esta evaluación se han encontrado en los jugos gastrointestinales de conejos, siendo similares en composición a la de los niños, que son la población con mayor riesgo de presentar problemas de salud. En el presente trabajo se utilizó el método de extracción basado en la fisiología (PBET) para evaluar la bioaccesibilidad de As y Pb en residuos minero-metalúrgicos y suelos contaminados de dos sitios en la República Mexicana. El método PBET requiere de equipo y reactivos de difícil adquisición y alto costo, además de larga duración y alta sensibilidad de las condiciones y manejos durante el ensayo. Por lo tanto, este método no puede usarse para evaluar cantidades grandes de muestras o rutinariamente. Se investigó la posibilidad de sustituirlo por métodos de extracción simple, ya sea HCl o NH<sub>4</sub>OAc. Se evaluaron las correlaciones entre los resultados de dichas extracciones y las de FG y/o FI del método PBET. La extracción en FG del método PBET correlacionó de forma muy alta con las extracciones usando HCl a pH 2, pero las extracciones con NH<sub>4</sub>OAc no correlacionaron significativamente con ninguna extracción PBET, sugiriendo que la disponibilidad de As y Pb no se lleva a cabo por procesos de intercambio iónico.

*Palabras clave*-bioaccesibilidad; extracciones simples.

## I. INTRODUCCIÓN

Los elementos potencialmente tóxicos (EPT) se pueden encontrar de manera natural en los suelos, pero el incremento anormal de éstos se debe a diferentes fuentes. La industria minera y metalúrgica ha sido durante siglos una fuente de ingreso de recursos económicos, pero ha contribuido a la generación de grandes cantidades de residuos que contienen EPT en concentraciones que pueden tener efectos nocivos en el equilibrio ecológico y del ambiente. También es una fuente directa de exposición a estos elementos para los humanos por ingestión incidental de suelo (geofagia) [1], inhalación de polvos, y absorción a través de la piel [2, 3]. La escasez de regulaciones en materia de remediación de suelos contaminados ha generado la aparición de sitios contaminados, los que se han constituido en pasivos ambientales y causado incerti-

dumbre entre los particulares en cuanto a las acciones que se deben llevar a cabo para remediar un sitio [4].

La acción de evaluar los riesgos de la toxicidad de los EPT basados en la concentración total de estos elementos en los suelos, resulta en una sobre-estimación del riesgo debido a que, aunque estos elementos pueden presentar fracciones minerales fácilmente solubles, presentan otras fracciones que son prácticamente insolubles y por tanto inmóviles en el ambiente [4]. Se han desarrollado investigaciones para estimar la cantidad de elementos tóxicos que pueden ser absorbidos por un organismo vivo, sean animales o plantas, y así determinar lo que se ha llamado “biodisponibilidad” *in vivo* [5], especialmente de arsénico (As) y plomo (Pb), como regímenes de prueba y han incluido cerdos jóvenes [6], ratas [7, 8], conejos [8, 9] y monos [10]. Debido a la complejidad y dificultad de trabajar directamente con seres vivos, además de los altos costos, se determinó que un método *in vitro* que sea rápido y barato es necesario para investigar las interacciones de varios factores y comparar la relativa solubilidad de EPT desde fuentes sólidas. Ha sido demostrado que las técnicas *in vitro* para evaluar la bioaccesibilidad de sustancias tóxicas en seres vivos, correlacionan directamente con el método *in vivo* [11, 12].

El problema de este método *in vitro* es la cantidad de tiempo que toma realizar cada ensayo (alrededor de siete horas para seis muestras) y el sistema de agitación que se usa en el laboratorio (flujo de argón) que, para estas evaluaciones, resulta ser un método demasiado largo y costoso. Debido a estas dificultades se hace necesario el encontrar otros medios de extracción más simples y expeditos que correlacionen con las extracciones obtenidas de los métodos de bioaccesibilidad de EPT, y por ende que resulten en análisis menos costosos y más reproducibles.

Los objetivos del presente estudio fueron: i) determinar la bioaccesibilidad (*in vitro*) de As y Pb, y correlacionarla con los contenidos mineralógicos de los relaves y suelos contaminados por relaves en Taxco, estado de Guerrero; y de los suelos contaminados por residuos de la industria minero-metalúrgica en San Luis Potosí, estado de San Luis Potosí;

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

## II. MATERIALES Y MÉTODOS



Figura 1. Mapa que ubica las muestras que se recolectaron en a) Taxco, estado de Guerrero y b) San Luis Potosí, San Luis Potosí.



Parámetros físico-químicos que fueron medidos en las muestras fueron pH, conductividad eléctrica (CE), contenido de arcillas, capacidad de intercambio catiónico (CIC), carbono inorgánico total (CIT) y carbono orgánico total (COT).

Los ensayos para determinar la bioaccesibilidad en FG y FI, se realizaron usando el equipo y el método PBET. La Fig.



Figura 2. Equipo para evaluar la bioaccesibilidad según el método PBET en el Laboratorio de Geoquímica Ambiental, del Instituto de Geología (UNAM). En ambas imágenes es posible apreciar las mangueras para el flujo de argón que es usado como sistema de agitación

En todas las soluciones resultantes de las extracciones en FG y con HCl a pH = 2 se cuantificaron As y Pb, usando espectrometría de emisión atómica por plasma inductivamente acoplado (ICP-AES, siglas en inglés). Los extractos de FI resultado de las pruebas PBET y las extracciones con NH<sub>4</sub>OAc se cuantificaron con la técnica ICP-MS. Las concentraciones totales fueron determinadas con un equipo portátil de fluorescencia de rayos X (FRX).

### A. Materiales y equipos

Se seleccionaron dos sitios de estudio: Taxco (Estado de Guerrero) (Fig. 1a); en donde se tomaron muestras del relave (una de ellas material oxidado) y de suelo en los alrededores del relave; y San Luis Potosí en la que se seleccionaron nueve muestras de los alrededores de la planta metalúrgica inactiva (de cobre y arsénico) del sitio.

2 muestra el diseño del equipo para evaluar la bioaccesibilidad de EPT que se usó en este estudio. Las extracciones simples se realizaron usando soluciones de HCl 0,1 mol L<sup>-1</sup> para compararla con la FG y con NH<sub>4</sub>OAc con la FI.



Las muestras se observaron y analizaron mediante un equipo SEM-EDS ambiental. Dos muestras se seleccionaron para ser analizadas por DRX fueron la SLP-02 y SLP-05. El motivo de la selección de estas dos muestras fue que las concentraciones totales de As, Pb y Fe son similares; sin embargo, las concentraciones registradas de estos mismos elementos en FG son diferentes para cada una de ellas (SLP-05 es más bioaccesible que SLP-02) Las muestras tamizadas por malla 400 se analizaron (sin molturación) utilizando porta-muestras de aluminio (fracción no orientada) en el intervalo angular 2θ

de 4° a 70°. Las mediciones fueron continuas y con una velocidad de 2° por segundo.

### B. Metodología experimental

1) *Preparación de muestras:* Todas las muestras recolectadas se secaron al aire a temperatura ambiente, se molieron y tamizaron por malla 10 (2 mm) para los análisis físico-químicos. Las muestras tamizadas en malla 10 se volvieron a tamizar por malla 60 (250 µm) para determinar la cantidad de metales pesados por el método PBET [11], así como por las extracciones simples. Las muestras tamizada por malla 400 (38 µm) que fueron usadas en las observaciones y análisis por microscopía electrónica y difracción de rayos X.

2) *Extracciones PBET:* Para las extracciones en fase gástrica (FG), un total de 100 mL de agua desionizada tipo I con pepsina (125 mg) y ácidos orgánicos (acético [42 µL], cítrico [50 mg], láctico [42 µL] y málico [50 mg]) fue ajustada a pH = 2 con HCl 37%. En los reactores se colocaron 1 g de muestra, los frascos de reacción se conectaron al sistema de agitación por circulación de argón sumergidos en un baño de agua a 37°C, se agregó la solución de ácidos y tres gotas de decanol como antiespumante. Se realizaron controles del pH y ajuste con HCl concentrado para mantener un valor de pH = 2 ± 0,2. A los 60 min se extrajeron alícuotas (6,6 mL) de los extractos, se filtraron a través de una membrana de 0,05 µm y en el líquido filtrado se determinó la concentración de As y Pb correspondiente a la fase gástrica. A la solución del reactor se incrementó el pH hasta 7 con NaHCO<sub>3</sub>. Se agregaron 6,6 mL de solución intestinal que contiene pancreatina (49,5 mg) y

extracto de bilis (171,6 mg). Se agitó el sistema usando flujo de argón por 5 min y se dejó en reposo por 55 min, repitiendo este proceso hasta ajustar un tiempo de 3 h. Luego se extrajeron 10 mL del fluido, que se filtraron a través de una membrana de 0,05 µm y en el líquido filtrado se determinó la concentración de EPT que correspondieron a la fase intestinal.

3) *Extracciones simples:* El método usado en el presente trabajo se diseñó basado en la metodología de extracción secuencial con HCl 0,1 mol L<sup>-1</sup> [13] y considerando que las concentraciones de los EPT de estudio no muestran diferencias estadísticas al variar la relación suelo:solución [14]. La relación de suelo con la solución de HCl se determinó agregando volúmenes conocidos (10 mL) de una solución de HCl 0,1 mol L<sup>-1</sup> a 1 g de muestra, seguido de agitación mecánica, hasta conseguir que el pH en la solución resultante fuera 2 ± 0,2 (pH = 2) y se hubiera mantenido en este intervalo de pH en el transcurso de 30 min usando agitación mecánica a 180 ciclos min<sup>-1</sup> y posterior filtrado a través de membranas de 0,05 µm.

La relación de suelo:solución de NH<sub>4</sub>OAc es de 1:4, se pesó en tubos plásticos de centrífuga la cantidad de muestra necesaria para obtener 25 mL de extracto. Se agitaron mecánicamente por 60 min de tiempo de reacción a 180 ciclos min<sup>-1</sup>. Luego de la agitación, las muestras se centrifugaron y el sobrenadante fue filtrado a través de membrana de 0,05 µm. Los extractos se almacenaron a temperatura entre 3 y 4°C hasta su determinación cuantitativa. En los dos extractos obtenidos se determinaron las concentraciones de EPT.

TABLA I. Resultados de los análisis físico-químicos de las muestras de Taxco y San Luis Potosí

Muestra	pH	CE mS cm <sup>-1</sup>	CIC cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>	Arcillas				S	CIT	COT
				Ca	Fe	Mn	% (p/p)			
TAXCO										
TJF - 01	7,2	2,1	< 1,5	5,0	6,1	25	1,0	17	9,7	1,2
TJF - 02	7,6	2,3	< 1,5	5,0	5,9	18	1,1	7,4	14	1,7
TJF - 03	7,6	2,2	< 1,5	5,0	6,9	15	0,95	7,0	18	1,8
TSF - 04	7,7	0,12	6,5	5,0	1,3	4,1	0,10	< 0,6	1,3	2,4
TSF - 05	8,1	0,13	4,7	5,0	5,9	3,7	0,072	< 0,6	7,4	2,7
TSF - 06	7,6	0,87	3,8	4,9	2,8	15	1,2	< 0,6	5,0	1,5
TSF - 07	7,7	2,0	< 1,5	2,9	8,0	8,7	0,37	4,4	14	1,9
TSF - 08	8,2	0,15	< 1,5	3,0	6,0	13	0,93	3,2	10	1,7
TJF - 09	3,3	2,3	< 1,5	3,0	2,8	20	0,10	18	0,10	1,9
TSF - 10	8,2	0,16	7,3	3,0	12	2,8	0,034	< 0,6	19	3,4
SAN LUIS POTOSÍ										
SLP - 01	6,8	0,71	7,8	3,0	0,5	2,3	0,054	< 0,6	0,92	2,2
SLP - 02	4,8	1,0	< 1,5	2,9	0,48	3,7	0,051	5,5	0,29	0,93
SLP - 03	5,7	0,31	< 1,5	3,0	0,74	6,3	0,042	12,4	0,47	1,0
SLP - 04	5,3	1,7	< 1,5	3,0	1,1	3,3	0,13	4,7	0,29	1,0
SLP - 05	6,6	0,29	1,9	2,9	1,7	4,1	0,06	8,2	1,2	1,4
SLP - 06	10	20	6,8	3,0	2,9	10	0,51	14	11	2,3
SLP - 07	6,2	2,4	< 1,5	3,0	1,3	11	0,18	16	0,28	1,8
SLP - 08	6,8	0,20	3,1	3,0	0,64	2,1	0,031	2,4	0,20	1,3
SLP - 09	6,0	5,4	< 1,5	3,0	0,82	7,7	< 0,01	42	7,0	4,5

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

### III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### A. Propiedades físico-químicas

De los parámetros físico-químicos determinados (Tabla I) pudo verificarse que existe una gran variabilidad en las mues-

tras, tanto de Taxco como de SLP. En ambos sitios la CIC y el contenido granulométrico de arcillas fueron muy bajos. Los relaves y suelos contaminados por éstos en Taxco mostraron valores de pH ligeramente mayores que 7 debido a la presencia, en gran proporción, de minerales de CaCO<sub>3</sub> como la calci-

ta. Mientras, en SLP, los suelos fueron ligeramente ácidos. Los contenidos de Fe y S en los relaves fueron muy superiores a los de suelos en Taxco, mientras que en SLP el Fe presentó concentraciones similares a los suelos de Taxco y el S tuvo un comportamiento muy variable.

### B. Concentraciones totales

Al comparar las concentraciones de los elementos analizados (Tabla II), en general, se pudo observar en todas las muestras que  $As > Pb$  y en los relaves pudo observarse un comportamiento particular con el Fe. Se conoce que un relave oxidado, debido a procesos redox al estar en contacto con el oxígeno del aire, con el transcurso del tiempo el drenaje ácido producido en la reacción consume el carbonato agregado para neutralizar a este ácido, de ahí el pH ácido de la muestra TJJ-09 (3,3). Se esperaba que, debido a estos mismos procesos redox y la acidificación del medio en el sitio, los EPT en esta muestra tuvieran valores más bajos que los relaves grises porque, a bajos valores de pH, los elementos se vuelven más solubles pudiendo ser lavados por el agua lluvia produciendo el decremento de las concentraciones de los EPT en estudio. Sin embargo, las concentraciones de Fe y As se muestran similares y el Pb incrementa su concentración. Esto podría ser debido a la formación de minerales de estos tres elementos que son poco solubles a pH ácido.

TABLA II. CONCENTRACIONES DE As, Pb y Fe EN LAS DIFERENTES FRACCIONES DE LAS MUESTRAS DE ESTUDIO

Muestra	Totales		FG			FI			HCl		NH <sub>4</sub> OAc	
	As	Pb	As	Pb	Fe	As	Pb	Fe	As	Pb	As	Pb
	mg kg <sup>-1</sup>		mg soluble kg <sup>-1</sup>			mg soluble kg <sup>-1</sup>			mg soluble kg <sup>-1</sup>		mg soluble kg <sup>-1</sup>	
TAXCO												
TJJ - 01	1628	667	39	351	2171	21	9	1456	8,6	193	0,089	3,3
TJJ - 02	1079	375	50	104	4469	17	1,2	1973	5,2	77	0,092	0,026
TJJ - 03	966	399	54	150	3904	25	6,4	1726	16	73	0,13	0,13
TSF - 04	163	105	15	36	335	5	2,5	210	3,1	24	0,12	0,13
TSF - 05	184	89	27	32	271	5,9	1,4	142	2,7	10	0,15	0,091
TSF - 06	1052	600	70	157	1211	29	2,7	662	16	54	0,21	0,094
TSF - 07	2669	635	112	256	1134	70	4,6	648	36	100	1,3	0,91
TSF - 08	4252	1056	129	400	877	65	13	538	18	112	1,9	0,43
TJJ - 09	1620	1367	20	18	364	4,7	3,7	99	< 2 <sup>a</sup>	19	0,01	0,16
TSF - 10	41	93	41	57	604	2,6	0,26	166	7,3	50	0,041	0,33
SAN LUIS POTOSÍ												
SLP - 01	707	990	406	767	364	326	152	248	217	467	26	36
SLP - 02	10124	10411	1167	3060	327	1421	549	352	1215	2441	34	393
SLP - 03	6163	10062	2532	9048	1377	2384	3389	1012	2945	7978	84	298
SLP - 04	35544	7387	12656	3318	590	11781	753	599	10492	1456	916	4,9
SLP - 05	12227	10939	4799	5563	1929	3022	269	649	2487	2068	279	56
SLP - 06	47632	30737	19006	13553	6720	1617	10	424	25372	14119	935	10
SLP - 07	18561	17811	7141	6558	2817	1896	72	460	6877	1556	92	177
SLP - 08	1702	3133	687	2287	1591	723	926	1485	354	1345	28	172
SLP - 09	636838	217522	48893	11059	378	96280	111	37	64526	7377	19149	61

### C. Extracciones en FG y FI

1) *Fase gástrica vs Fase intestinal*: En estudios realizados se ha encontrado que estos metales presentan su máxima solubilidad en la FG y que esta solubilidad decrece al pasar a la FI (Fig. 1), la cual conlleva un incremento en el pH (de pH 2 en FG a pH 7 en FI) [17-20]. Los altos valores de bioaccesibilidad del Pb en la fase gástrica se debieron al bajo pH en esta fase, lo que facilita la disolución de estos elementos. El de-

cremento de la concentración al pasar de FG a FI se debe probablemente a reacciones de precipitación o sorción que ocurren con el incremento del pH [11, 17, 21]. Los metales disueltos pueden ser sorbidos a los minerales de Fe amorfo por medio de complejación superficial o ser incorporados en los precipitados de Fe y que contribuyen a la reducción de la concentración de los metales disueltos en la FI [12, 17, 22]. Minerales de especies carbonatadas [(CO<sub>3</sub>)<sup>2-</sup>] o sus óxidos metálicos son también solubles bajo condiciones ácidas y, por tanto, alta-

mente bioaccesibles, mientras que minerales sulfurados ( $S^{2-}$ ) son pobremente solubles en ambientes con bajos valores de pH (bioaccesibilidad baja) [23].

Las muestras presentarán comportamientos diferentes dependiendo de los minerales presentes en el sistema, incluso teniendo incremento de la concentración de la FI que en la FG. Meunier et al. (2011c) muestra que, dependiendo de la composición mineralógica del sector, los elementos no logran alcanzar el equilibrio en la FG, ya que al extender el tiempo de reacción de esta fase encontraron incrementos y decrementos de las concentraciones del metal estudiado al comparar los resultados luego de una hora de tiempo de reacción que sugiere el método [24]. Tomando lo descrito por Ruby et al. (1993) en este trabajo, en la FI los elementos se pueden encontrar

presentes en cuatro formas: i) solubilizados ya sea como iones o formando complejos con ligantes orgánicos; ii) solubilizados, unidos a especies de alta masa molecular (proteínas, enzimas, MO, etc.); iii) como elementos que fueron solubilizados en la FG pero que fueron sorbidos sobre las superficies de sólidos o que precipitan ellos mismos en la FI; y iv) los elementos que se mantuvieron insolubles en la FG. Las especies de los elementos pueden permanecer en disolución si las respectivas constantes de solubilidad de los minerales de las especies no han sido excedidas o si los elementos forman complejos solubles con ligantes orgánicos o inorgánicos [20]. Se ha sugerido que los ácidos orgánicos y las enzimas en el tracto gastrointestinal en medio neutro de la FI pueden enlazar o inhibir la formación de precipitados de Pb [11].

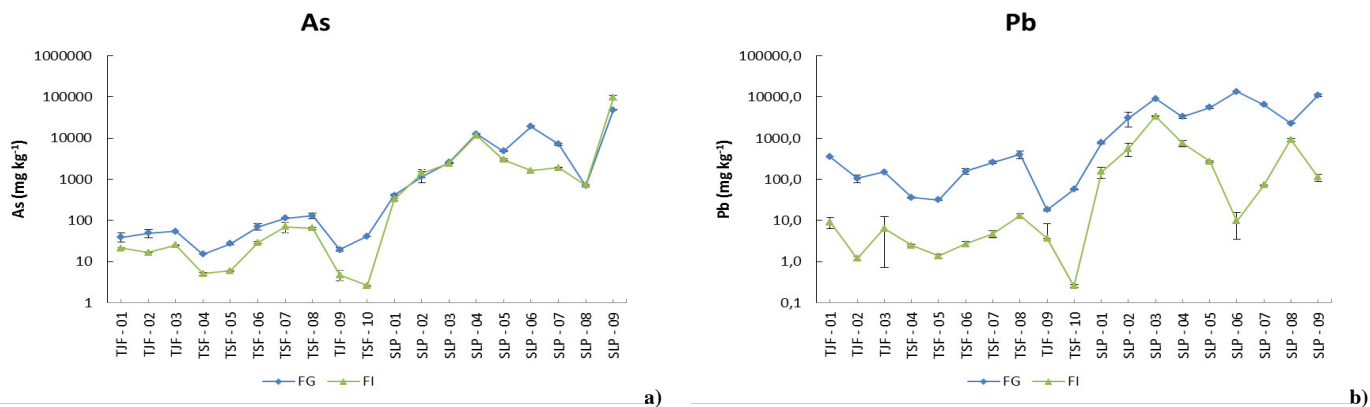


Figura 1. Comparación esquemática entre las bioaccesibilidades en la FG y la FI de los EPT de interés en el presente estudio. El eje de las ordenadas se presenta en escala logarítmica para apreciar mejor las concentraciones bajas. Se enlazaron los datos con líneas solamente como ayuda visual

La disolución de los oxihidróxidos de Fe con la disminución del pH ha sido extensamente reportada y su grado depende de la naturaleza cristalina de estos oxihidróxidos y del tamaño de partícula. Estudios realizados con Pb mencionan que la disolución del Pb en FG está asociada con la solubilización del Fe y que incrementando el tiempo de contacto en FG generalmente resulta en el incremento de la concentración tanto de Pb como de Fe en la fase. Los factores que controlan la solubilidad de los metales en la FI son complejos, pero el pH de esta fase (pH = 7) tiene una fuerte influencia en el comportamiento

de los metales. Smith et al. (2011a) determinan por análisis de XANES que los metales de la FI mostraron una fuerte asociación con los oxihidróxidos de Fe y con las arcillas presentes en todos sus suelos investigados. La asociación del metal con el Fe observada en el análisis espectroscópico está apoyada en el análisis de la solución extraída de la FI en la que se observa que la concentración del metal decrece al modificar las condiciones, de la FG a la FI y que está acompañada por la correspondiente disminución de la concentración de Fe soluble [22].

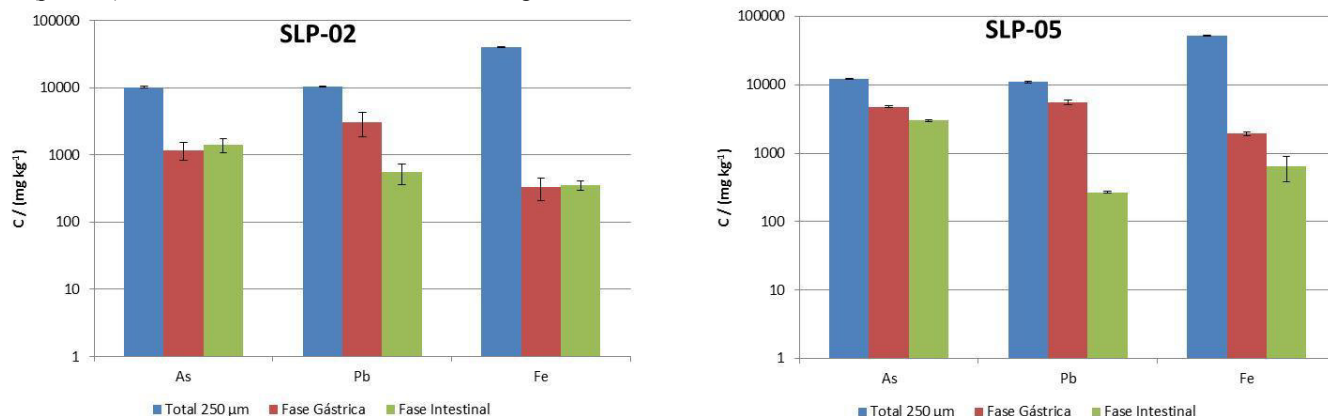


Figura 2. Gráfico de las concentraciones promedio de As, Pb y Fe totales en las partículas < 250 µm, en la fase gástrica (FG) y en la fase intestinal (FI) de las muestras SLP-02 y SLP-05

La marcada asociación de los metales con oxihidróxidos de Fe en la FI es de interés en las muestras SLP-02 y SLP-05 que

tienen concentraciones totales de As y Pb similares en la fracción de partículas < 250 µm (Tabla 2) y, sin embargo, muy

diferente bioaccesibilidad. Puede verse que en SLP-02 las concentraciones de As en la FG y la FI presentaron valores similares, mientras que para As en SLP-05 y para Pb en las dos muestras, las concentraciones en la FG fueron mayores que en la FI. La diferencia de la bioaccesibilidad en estos suelos puede ser debido a la alta concentración de Fe soluble en la FG, pese a tener concentraciones totales de Fe también similares. Los cambios en la concentración de Fe al seguir la modificación de las condiciones de la FG a FI (Fig. 2) ocurrieron como resultado de la precipitación de estructuras amorfas de Fe debido a la sobresaturación de las especies de Fe hidrolizadas resultantes del incremento del pH de la solución [25]. La correspondiente disminución de los metales solubles en la FI comparándola con la FG es resultado de la precipitación por el incremento del pH de la solución, co-precipitación con minerales amorfos de Fe o la re-adsorción sobre éstos y otros minerales (e.g., arcillas) de la matriz del suelo [26, 27].

En la Fig. 1 a), puede observarse un comportamiento diferente del As por localidad. En Taxco es evidente que las concentraciones encontradas en la FG son más altas que las concentraciones en la FI. Sin embargo, una tendencia diferente es la que puede evidenciarse para SLP, en la que las concentraciones en cada fase muestran ser estadísticamente iguales en varias muestras (SLP-01 a 04 y SLP-08); en otra, las concentraciones en la FI son mayores que en la FG (SLP-09) y en unas pocas se muestra la tendencia que ya se ha observado de mayor concentración en la FG que en la FI (SLP-05 a 07).

Wang y Mulligan (2009) observaron la interacción entre los ácidos húmicos y los cationes metálicos, citando que ésta resulta de la formación de especies de humatos de metal solubles en lugar de la precipitación de hidróxidos metálicos a pH mayor a 8 que, además, evita la re-precipitación del As por adsorción y/o co-precipitación con los hidróxidos. Encontraron también que la solubilidad de los complejos metal-AH se incrementa a valores de pH altos. El As puede ser enlazado a los complejos a través de mecanismos de puentes metálicos o formando complejos acuosos directamente con el ácido húmico, que puede incrementar la movilidad de los elementos en los relaves mineros [28]. Estos mismos procesos pueden estar sucediendo con los metales en estudio y los ácidos orgánicos presentes en la FG; Ruby et al (1993) incluso encontraron las constantes de formación de los complejos de los ácidos orgánicos de la FG y determinaron que los complejos con ácido cítrico ( $K_{ML} = 4,1$ ) tienen mayor estabilidad en comparación con los demás ácidos que mostraron constantes de formación similares ( $K_{ML}$  en el intervalo de 2,0 a 2,6). La presencia de Ca es un posible indicador asociado con la formación de más arseniatos solubles. También ha sido demostrado que la presencia de óxidos de Fe disminuyen la bioaccesibilidad del As [29].

En resumen, la absorción en el tracto gastrointestinal de EPT es un proceso dinámico y complejo que involucra procesos de disolución, sorción, absorción e interacciones con otro tipo de componentes en la dieta. La disolución de todos los elementos de estudio se debió a que los compuestos de carbonatos, sulfatos y en menor extensión sulfuros incrementan su solubilidad en condiciones ácidas. Se ha encontrado que, para el Pb, su solubilidad disminuye al cambiar las condiciones de extracción, de pH ácido en la FG a pH neutro en la FI. Esta

disminución de la bioaccesibilidad en la FI se debe a que ocurren procesos de sorción al incrementarse el pH (adsorción, co-precipitación), y/o de precipitación. En estos procesos de sorción en las condiciones intestinales, son importantes los óxidos de Fe y Mn de bajo punto de carga cero (PZC), sobre cuyas superficies negativamente cargadas por el incremento del pH, se adsorberán los elementos mencionados. La formación de carbonatos del metal también ayudó a la disminución de la solubilidad del Pb. El hecho de que se encontraron EPT solubles en la FI se debió a la formación de complejos con los ácidos orgánicos presentes en la FG, las sales biliares en FI y la MOS también puede colaborar con la permanencia en solución de los EPT [7, 30]. Para ambas fases, los sistemas de extracción no llegan al equilibrio cinético en los tiempos respectivos de toma de muestra para el análisis, por lo que este puede ser factor importante al explicar la variabilidad de los resultados.

#### D. Extracciones con HCl y $NH_4OAc$

1) *Ácido clorhídrico:* En la Tabla 2 puede observarse que, para Pb, la mayoría de muestras tuvieron menor concentración en la extracción con HCl. Esto concuerda con lo encontrado por Ruby et al. (1993) [11]. En su artículo se atribuye este decremento (20% en solubilidad máxima del Pb) a la ausencia de los ácidos orgánicos. El As en Taxco también mostró un decremento en la fase de HCl con respecto a la FG. Sin embargo, lo más importante es que exista una alta correlación lineal, puesto que siempre a través de ésta se puede convertir a la verdadera bioaccesibilidad en la FG. Los análisis de regresión lineal (Fig. 3 y Tabla III) de todas las muestras indican una muy alta correlación para As ( $r = 0,99$ ) y menor para Pb ( $r = 0,93$ ). Esto es muy significativo puesto que sugiere que el método sencillo de extracción simple con HCl puede utilizarse para calcular los contenidos esperables en la FG de una muestra.

Las pendientes de las líneas son menores a uno para As y la unidad para Pb. Esto indica que el uso exclusivo de soluciones de HCl, extraen la misma cantidad o menor que el sistema simulado de la FG, es decir, la contribución de los otros ácidos de la FG es evidente para As, pero no lo es para el Pb.

Al comparar los valores de las ecuaciones generales y las de SLP se puede apreciar que los valores de "r" y "m" son muy similares (Tabla III). Esto está indicando el dominio de las altas concentraciones de las muestras de SLP en el cálculo de estos dos parámetros. De hecho, si se observan los valores de Taxco únicamente, el cuadro cambia completamente y la linealidad, para los elementos estudiados, baja considerablemente. Se especula que esto se debe a las bajas concentraciones obtenidas, en muchos casos por debajo de los límites de detección y, por tanto, a incertidumbres analíticas que causan mayor variabilidad en los resultados de ambas extracciones (FG y HCl).

La extracción con HCl a pH = 2, puede ser usada como un potencial remplazo para la extracción en la FG según el método PBET en el sector de SLP. Sin embargo, se deben tener muy en cuenta las correcciones respectivas según los parámetros de las rectas de regresión (Tabla III) para el cálculo de la concentración en la FG debido a que la relación entre estas dos extracciones no es uno a uno.

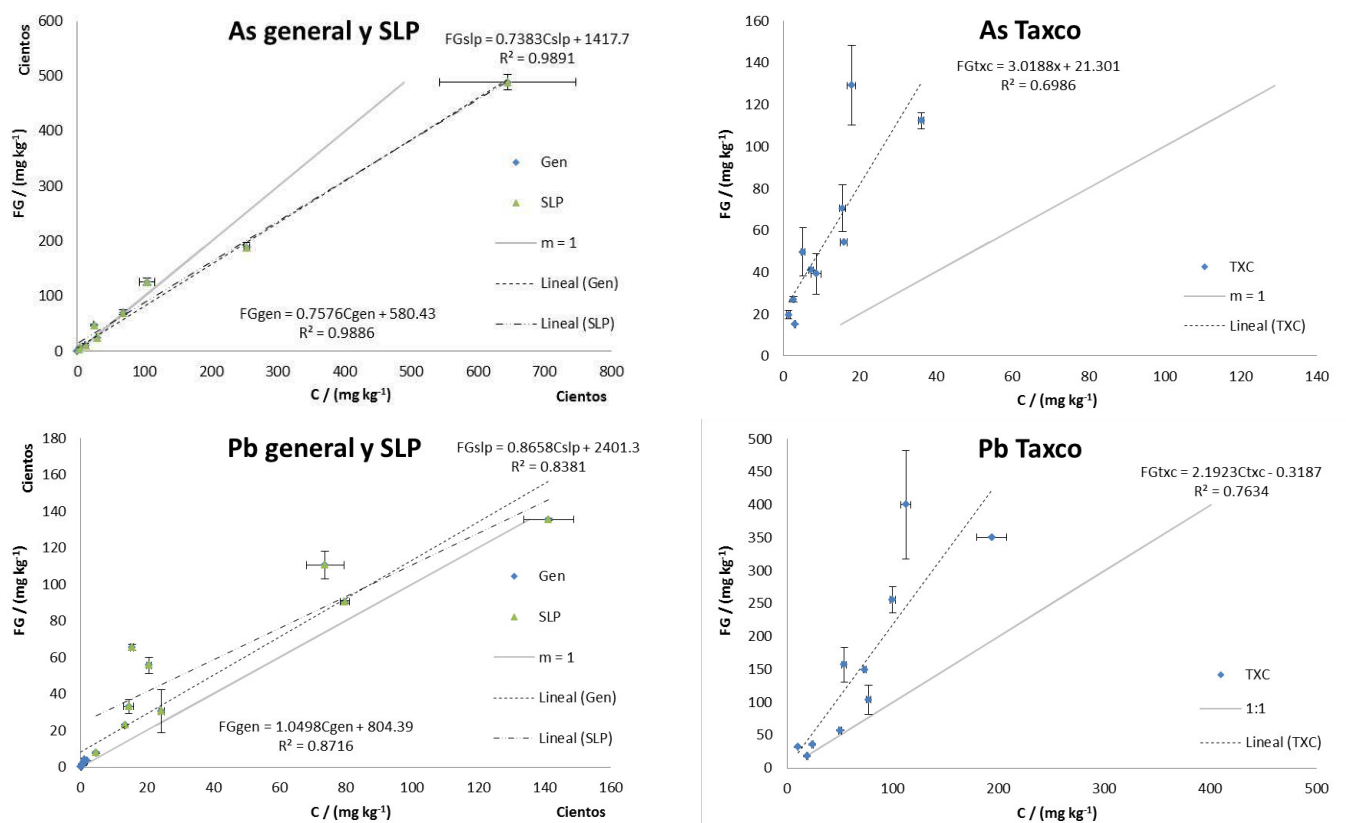


Figura 3. Rectas de regresión entre las extracciones con HCl a pH = 2 (C) vs las concentraciones en la FG para cada sitio de estudio. La línea continua representa la recta teórica si la relación entre las dos extracciones tuviese una pendiente de uno ( $m = 1$ )

TABLA III. PARÁMETROS DE LA RECTA DE REGRESIÓN (HCl a pH = 2 vs FG y  $\text{NH}_4\text{OAc}$  vs FI) CALCULADOS PARA TODAS LAS MUESTRAS POR ELEMENTO DE MODO GENERAL Y PARA CADA SITIO DE ESTUDIO

Parámetro	FG		FI	
	As	Pb	As	Pb
		GENERAL		
r	0,994	0,934	0,747	0,633
m	0,76	1,0	7,03	4,38
b	580	804	364	51
		SAN LUIS POTOSÍ		
r	0,995	0,915	0,653	0,51
m	0,74	0,87	6,1	3,95
b	1418	2401	1073	162
		TAXCO		
r	0,836	0,874	0,615	0,473
m	3,02	2,19	103	1,87
b	21	-0,3	2,8	3,4

2) *Acetato de amonio*: En la Fig. 4 se puede apreciar una comparación de las concentraciones de las extracciones en la FI y con  $\text{NH}_4\text{OAc}$ . Muy notorio es para As y en la mayoría de las muestras para Pb que las concentraciones en la FI son elevadas en relación con las del extracto de  $\text{NH}_4\text{OAc}$ . Las bajas concentraciones en las extracciones con  $\text{NH}_4\text{OAc}$  es un indicativo de que existen muy pocas especies formando complejos de esfera externa o que sean especies minerales fácilmente solubles. Sin embargo, en los casos en que las concentraciones de extracción con  $\text{NH}_4\text{OAc}$  son mayores que las

obtenidas en la FI, esto puede ser un indicador de que la presencia de iones bicarbonato de la FI produce especies de EPT que se insolubilizan/inmovilizan considerablemente en esas muestras. La Tabla III muestra los elementos que tuvieron correlaciones lineales de los resultados de la extracción con  $\text{NH}_4\text{OAc}$  y los de la FI. En el caso de la FI, sólo correlacionó para As en Taxco. En todos los casos en que hubo correlación significativa, la pendiente fue muy superior a uno, lo cual es indicativo de las bajas concentraciones extraídas con  $\text{NH}_4\text{OAc}$  en comparación con ambas fases de la prueba PBET.

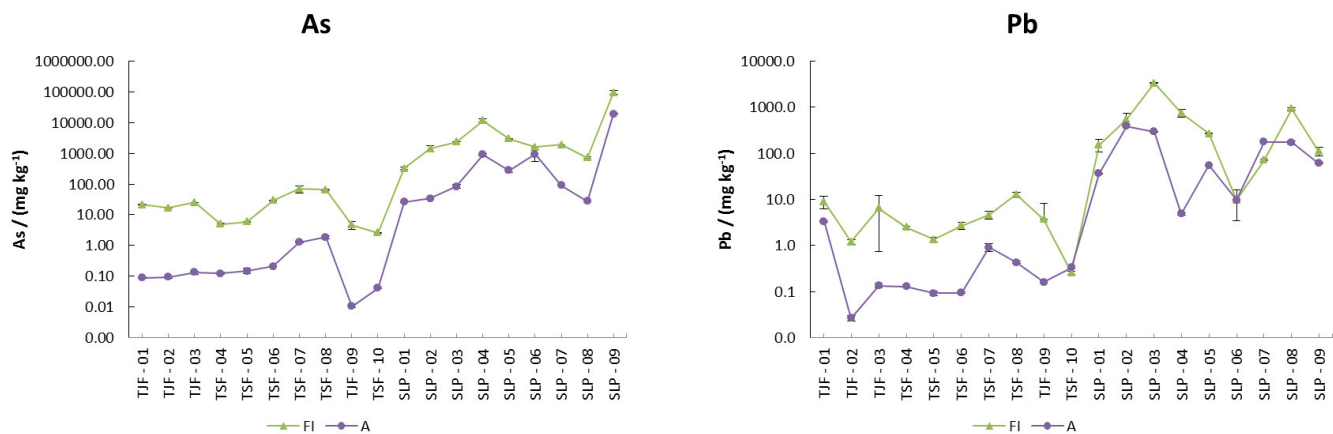


Figura 4. Comparación de las concentraciones en FI y las concentraciones con  $\text{NH}_4\text{OAc}$  1 mol  $\text{L}^{-1}$  a pH 7

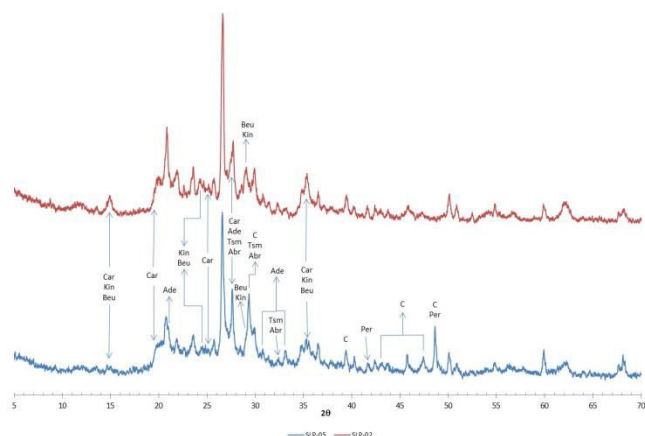


Figura 5. Patrones de difracción de las muestras SLP-02 (menos bioaccesible en FG) y SLP-05 (más bioaccesible en la FG). Se muestran las asignaciones hechas por el MATCH! 2 de la carminita (Car), beudantita (Beu), kintoreita (Kin), calcita (C), arsendescloizita (Ade), tsumcorita (Tsm), arsenbrackebuschita (Abr) y periclasa (Per)

### E. Difracción de rayos X

Las muestras que se seleccionaron para someterlas a este método de análisis fueron la SLP-02 (menos bioaccesible en la FG) y SLP-05 (más bioaccesible en la FG) por las concentraciones totales de Pb y As altas y similares, pero concentraciones bioaccesibles diferentes. Los difractogramas de los dos suelos seleccionados se muestran en la Fig. 5. Los análisis preliminares burdos de los patrones de difracción para las dos muestras, interpretando los picos mayores, resultaron en una composición de fases mayores similares en ambas, encontrándose: cuarzo [ $\text{SiO}_2$ ], plagioclasa de composición intermedia [ $(\text{CaNa})(\text{SiAl})_4\text{O}_8$ ], jarosita  $\text{KFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$ , calcita [ $\text{CaCO}_3$ ], pirita [ $\text{FeS}$ ] y hematita [ $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ]. Usando el MATCH! 2 y haciendo énfasis en los elementos As, Pb, Fe y S, se encontró que la muestra SLP-02 tiene minerales como la carminita [ $\text{PbFe}_2(\text{AsO}_4)_2(\text{OH})$ ], la kintoreita [ $\text{PbFe}_3(\text{PO}_4)_2(\text{OH}, \text{H}_2\text{O})_6$ ] y beudantita [ $\text{PbFe}_3(\text{AsO}_4)(\text{SO}_4)(\text{OH})_6$ ]; La muestra SLP-05 presentó mayor cantidad de minerales de esos cuatro elementos, entre los que el programa detectó: carminita, arsendescloizita [ $\text{PbZn}(\text{AsO}_4)(\text{OH})$ ], tsumcorita [ $\text{Pb}(\text{Zn}, \text{Fe})_2(\text{AsO}_4)_2(\text{OH}, \text{H}_2\text{O})_2$ ], arsenbrackebuschita [ $\text{Pb}(\text{Zn}, \text{Fe})(\text{AsO}_4)_2(\text{OH}, \text{H}_2\text{O})$ ],

kintoreita, beudantita, thometzekita [ $\text{Pb}(\text{Cu}, \text{Zn})_2(\text{AsO}_4)_2(\text{OH}, \text{H}_2\text{O})_2$ ] y duftita [ $\text{PbCu}(\text{AsO}_4)(\text{OH})$ ].

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

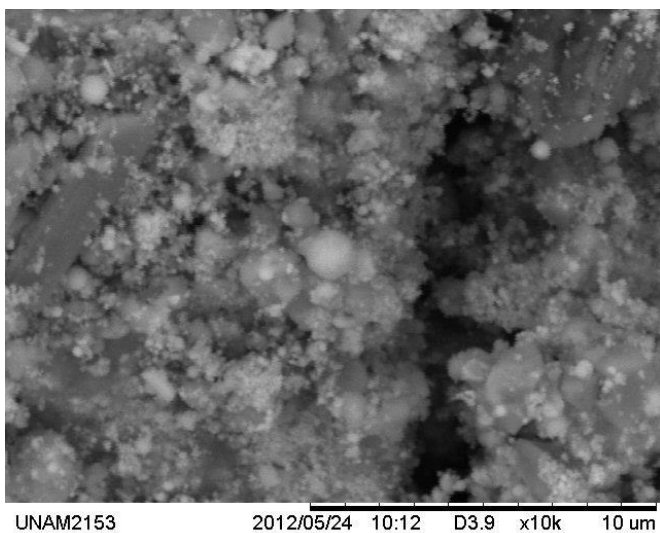
### F. Microscopía electrónica

La Fig. 6 muestra la imagen de una de las partículas esféricas que fueron muy comunes en las muestras de SLP. Puede apreciarse que el porcentaje de As en esta partícula es elevada junto con el Pb. Romero et al. (2008) identificó a estas esferas como arseniato de Pb. Sin embargo, se puede observar la presencia de Cd, Cu, Zn y S, los cuales se pueden asociar con la presencia de partículas con una compleja composición química, donde el Pb es el elemento mayoritario pero tienen asociadas cantidades bajas de estos elementos como fases complejas dentro del sulfato de Pb [31].

En la Fig. 7 puede observarse que el cristal de forma octaédrica al que se realizó el análisis EDS presenta una concentración predominante de As. Estos cristales corresponden a la arsenolita ( $\text{As}_2\text{O}_3$ ), aunque adicionalmente muestran concentraciones considerables de Cd, Fe, S, y Zn. Las muestras que Romero et al. (2008) estudiaron del mismo sitio en San Luis Potosí, contenían cantidades importantes de arsenolita ( $\text{As}_2\text{O}_3$ ) y arseniato de K y Pb [ $\text{Pb}_3\text{K}_2(\text{AsO}_4)_2(\text{SO}_4)$ ].

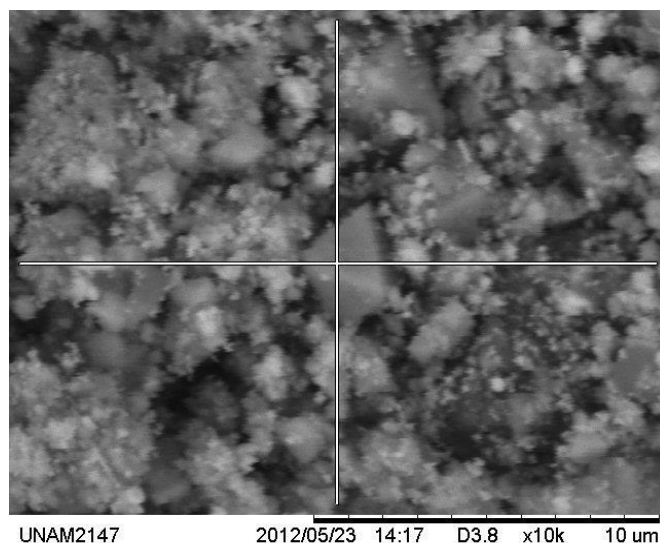
Para Taxco, se analizó la fracción  $< 38 \mu\text{m}$  de la muestra de suelo TSF-08. No fue posible observar claras asociaciones de los EPT, pese a ser la muestra con mayor concentración de los EPT de estudio en Taxco. Sin embargo, las altas concentraciones de Fe en estas muestras podrían ser un claro indicativo de la presencia de minerales férricos que podrían asociar a los elementos de estudio.





Elemento	% en masa
Azufre	2,7
Hierro	0,0
Cobre	7,8
Zinc	8,2
Arsénico	31,6
Cadmio	12,1
Plomo	37,6

Figura 6. Micrografía de la muestra SLP-09 de la fracción de muestra < 250 μm molida. Se puede observar una esfera blanca en el centro de la imagen. Se muestra también el análisis EDS en esta partícula



Elemento	% en masa
Azufre	6,5
Hierro	10,2
Cobre	0,0
Zinc	5,8
Arsénico	59,6
Cadmio	17,9

Figura 7. Micrografía de la muestra SLP-09 de la fracción de muestra < 38 μm. Se puede observar un cristal piramidal en el centro de la imagen. Se muestra también el análisis EDS de esta partícula

#### IV. CONCLUSIONES

Se determinaron las bioaccesibilidades (*in vitro*) de As y Pb de las muestras de relaves y suelos contaminados por los relaves de Taxco y de las muestras de suelos contaminados con residuos de la industria metalúrgica en San Luis Potosí. En general, las bioaccesibilidades absolutas mostraron correlaciones lineales positivas con su contenido total en SLP, pero no así en Taxco. No se pudieron correlacionar las bioaccesibilidades encontradas con las propiedades fisicoquímicas de las muestras recolectadas. Tampoco fue posible determinar la mineralogía en que residen los EPT estudiados; sin embargo, con el uso del programa MATCH 2! pudo evidenciarse la presencia de asociaciones mineralógicas entre As, Pb, Fe y S. Por otro lado, se pudo determinar de manera indirecta que, en SLP, la presencia de minerales de Fe de baja cristalinidad son los que controlan en mayor extensión la movilidad de los EPT a través de procesos de sorción/desorción.

Pudo encontrarse que la extracción con HCl a pH = 2 por 30 min registró muy buenas correlaciones con las bioaccesibilidad en la FG para los EPT de estudio en SLP. Esto pone de manifiesto el papel preponderante del HCl en el método de extracción de la FG. Sin embargo, a concentraciones bajas y/o en presencia de minerales menos oxidados, no se encontró correlación (para los otros EPT en Taxco), aunque no se descartan problemas por errores analíticos importantes debido a las bajas concentraciones de las muestras de esta localidad en comparación con las de SLP. La relativa sencillez del método de extracción con HCl a pH 2 y su muy alta correlación con la FG, permite predecir con mucha exactitud la bioaccesibilidad en la FG de un suelo contaminado de acuerdo con el método PBET.

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

#### AGRADECIMIENTOS

Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas (UNAM), Dr. Mario Villalobos Peñalosa, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Dr. Francisco Martín Romero, Laboratorio de Análisis Físico-Químicos de Ambiente (LAFQA), Dra. Rosa María Prol Ledesma, Laboratorio de Geoquímica Ambiental, Laboratorio de Difracción de Rayos X (ambos laboratorios en el Instituto de Geología, UNAM), Laboratorio de Geoquímica en el Instituto de Geología (UASLP) y la Industrial Minera México S.A. de C.V.

#### REFERENCIAS

- [1] P. Abrahams, "Geophagy and the involuntary ingestion of soil," in *Essentials of Medical Geology: Impact of the Natural Environment on Public Health*, O. Selinus, B. Alloway, J. Centeno, R. Finkelman, R.

- Fuge, L. Ulf, and P. Smedley, Eds. Amsterdam: Elsevier, 2005, pp. 435-458.
- [2] J. Dean, *Bioavailability, bioaccessibility and mobility of environmental contaminants*: Wiley, 2008.
- [3] J. Wragg and M. R. Cave, *In-vitro methods for the measurement of the oral bioaccessibility of the selected metal and metalloids in soils: A critical review*: Environment Agency and the British Geological Survey, 2002.
- [4] SEMARNAT/SSA1-2004, "Proyecto de norma oficial mexicana PROY-NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plomo, selenio, talio y vanadio," S. d. M. A. y. R. Naturales, Ed. México: Diario Oficial de la Federación, 2005, pp. 5-17, 63-66.
- [5] W. J. Dodds and C. K. Hsu, "Introduction - strengths and limitations of the pig as an animal-model," *Federation Proceedings*, vol. 41, pp. 247-248, 1982.
- [6] S. W. Casteel, R. P. Cowart, C. P. Weis, G. M. Henningsen, E. Hoffman, W. J. Brattin, R. E. Guzman, M. F. Starost, J. T. Payne, S. L. Stockham, S. V. Becker, J. W. Drexler, and J. R. Turk, "Bioavailability of lead to juvenile swine dosed with soil from the Smuggler Mountain NPL site of Aspen, Colorado," *Fundamental and Applied Toxicology*, vol. 36, pp. 177-187, Apr 1997.
- [7] K. M. Ellickson, R. J. Meeker, M. A. Gallo, B. T. Buckley, and P. J. Liroy, "Oral bioavailability of lead and arsenic from a NIST standard reference soil material," *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 40, pp. 128-135, Jan 2001.
- [8] G. B. Freeman, J. D. Johnson, J. M. Killinger, S. C. Liao, A. O. Davis, M. V. Ruby, R. L. Chaney, S. C. Lovre, and P. D. Bergstrom, "Bioavailability of arsenic in soil impacted by smelter activities following oral administration in rabbits," *Fundamental and Applied Toxicology*, vol. 21, pp. 83-88, Jul 1993.
- [9] A. Davis, M. V. Ruby, and P. D. Bergstrom, "Bioavailability of arsenic and lead in soils from The Butte, Montana, mining district," *Environmental Science & Technology*, vol. 26, pp. 461-468, Mar 1992.
- [10] G. B. Freeman, R. A. Schoof, M. V. Ruby, A. O. Davis, J. A. Dill, S. C. Liao, C. A. Lapin, and P. D. Bergstrom, "Bioavailability of arsenic in soil and house dust impacted by smelter activities following oral administration in cynomolgus monkeys," *Fundamental and Applied Toxicology*, vol. 28, pp. 215-222, Dec 1995.
- [11] M. V. Ruby, A. Davis, T. E. Link, R. Schoof, R. L. Chaney, G. B. Freeman, and P. Bergstrom, "Development of an in vitro screening-test to evaluate the in vivo bioaccessibility of ingested mine-waste lead," *Environmental Science & Technology*, vol. 27, pp. 2870-2877, Dec 1993.
- [12] A. L. Juhasz, J. Weber, R. Naidu, D. Gancarz, A. Rofe, D. Todor, and E. Smith, "Determination of cadmium relative bioavailability in contaminated soils and its prediction using in vitro methodologies," *Environmental Science & Technology*, vol. 44, pp. 5240-5247, Jul 2010.
- [13] D. Sparks, *Methods of soil analysis*, part 3. Madison: American Society of Agronomy, 1996.
- [14] J. S. Yang, J. Y. Lee, K. Baek, T. S. Kwon, and J. Choi, "Extraction behavior of As, Pb, and Zn from mine tailings with acid and base solutions," *Journal of Hazardous Materials*, vol. 171, pp. 443-451, Nov 2009.
- [15] A. L. Juhasz, E. Smith, J. Weber, M. Rees, A. Rofe, T. Kuchel, L. Sansom, and R. Naidu, "In vitro assessment of arsenic bioaccessibility in contaminated (anthropogenic and geogenic) soils," *Chemosphere*, vol. 69, pp. 69-78, Aug 2007a.
- [16] T. M. Williams, B. G. Rawlins, B. Smith, and N. Breward, "In vitro determination of arsenic bioavailability in contaminated soil and mineral beneficiation waste from Ron Phibun, southern Thailand: A basis for improved human risk assessment," *Environmental Geochemistry and Health*, vol. 20, pp. 169-177, Dec 1998.
- [17] X. Y. Tang, Y. G. Zhu, Y. S. Cui, J. Duan, and L. Tang, "The effect of ageing on the bioaccessibility and fractionation of cadmium in some typical soils of China," *Environment International*, vol. 32, pp. 682-689, Jul 2006.
- [18] J. Sialelli, C. M. Davidson, A. S. Hursthouse, and F. Ajmone-Marsan, "Human bioaccessibility of Cr, Cu, Ni, Pb and Zn in urban soils from the city of Torino, Italy," *Environmental Chemistry Letters*, vol. 9, pp. 197-202, Jun 2011.
- [19] X. Y. Tang, Y. S. Cui, J. Duan, and L. Tang, "Pilot study of temporal variations in lead bioaccessibility and chemical fractionation in some Chinese soils," *Journal of Hazardous Materials*, vol. 160, pp. 29-36, Dec 2008.
- [20] A. L. Juhasz, J. Weber, E. Smith, R. Naidu, B. Marschner, M. Rees, A. Rofe, T. Kuchel, and L. Sansom, "Evaluation of SBRC-gastric and SBRC-intestinal methods for the prediction of in vivo relative lead bioavailability in contaminated soils," *Environmental Science & Technology*, vol. 43, pp. 4503-4509, Jun 2009b.
- [21] S. Denys, J. Caboche, K. Tack, and P. Delalain, "Bioaccessibility of lead in high carbonate soils," *Journal of Environmental Science and Health Part a-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering*, vol. 42, pp. 1331-1339, 2007.
- [22] E. Smith, I. M. Kempson, A. L. Juhasz, J. Weber, A. Rofe, D. Gancarz, R. Naidu, R. G. McLaren, and M. Grafe, "In vivo-in vitro and XANES spectroscopy assessments of lead bioavailability in contaminated peri-urban soils," *Environmental Science & Technology*, vol. 45, pp. 6145-6152, Jul 2011a.
- [23] M. V. Ruby, A. Davis, R. Schoof, S. Eberle, and C. M. Sellstone, "Estimation of lead and arsenic bioavailability using a physiologically based extraction test," *Environmental Science & Technology*, vol. 30, pp. 422-430, Feb 1996.
- [24] L. Meunier, I. Koch, and K. J. Reimer, "Effects of dissolution kinetics on bioaccessible arsenic from tailings and soils," *Chemosphere*, vol. 84, pp. 1378-1385, Sep 2011c.
- [25] C. E. Martinez and M. B. McBride, "Cd, Cu, Pb, and Zn coprecipitates in Fe oxide formed at different pH: Aging effects on metal solubility and extractability by citrate," *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 20, pp. 122-126, Jan 2001.
- [26] S. E. O'Reilly and M. F. Hochella, "Lead sorption efficiencies of natural and synthetic Mn and Fe-oxides," *Geochimica Et Cosmochimica Acta*, vol. 67, pp. 4471-4487, Dec 2003.
- [27] C. H. Yu, L. M. Yiin, and P. J. Liroy, "The bioaccessibility of lead (Pb) from vacuumed house dust on carpets in urban residences," *Risk Analysis*, vol. 26, pp. 125-134, Feb 2006.
- [28] S. Wang and C. N. Mulligan, "Effect of natural organic matter on arsenic mobilization from mine tailings," *Journal of Hazardous Materials*, vol. 169, pp. 721 - 726, 2009.
- [29] J. K. Yang, M. O. Barnett, J. L. Zhuang, S. E. Fendorf, and P. M. Jardine, "Adsorption, oxidation, and bioaccessibility of As(III) in soils," *Environmental Science & Technology*, vol. 39, pp. 7102-7110, Sep 2005.
- [30] C. Grøn and L. Andersen, "Human bioaccessibility of heavy metals and PAH from soil, Environmental Project No. 840 2003," Danish Environmental Protection Agency, Technology Programme for Soil and Groundwater Contamination. DHI—Water and Environment, Denmark 2003.
- [31] F. M. Romero, M. Villalobos, R. Aguirre, and M. E. Gutierrez, "Solid-phase control on lead bioaccessibility in smelter-impacted soils," *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 55, pp. 566-575, Nov 2008.