



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

**OPTIMIZACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE
ARSÉNICO PSEUDOTOTAL Y BIODISPONIBLE EN SUELOS Y
SEDIMENTOS UTILIZANDO DISEÑO EXPERIMENTAL Y
ANÁLISIS MULTIVARIADO**

Rodrigo Pérez Rodríguez

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Departamento de Química
Bogotá, Colombia
2016

OPTIMIZACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE ARSÉNICO PSEUDOTOTAL Y BIODISPONIBLE EN SUELOS Y SEDIMENTOS UTILIZANDO DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS MULTIVARIADO

Rodrigo Pérez Rodríguez

Tesis de investigación presentada como requisito parcial para optar al título de:

Magister en Ciencias - Química

Directora:

Ph.D., Elianna Castillo Serna

Línea de Investigación:

Quimiometría Aplicada

Grupo de Investigación:

Grupo de Estudio para la Remediación y Mitigación de Impactos Negativos al Ambiente
GERMINA

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias, Departamento de química

Bogotá, Colombia

2016

A mis padres

Agradecimientos

Expreso mi más profundo agradecimiento al grupo de investigación GERMINA en especial a mi directora Elianna Castillo por darme tantos consejos que me han ayudado a crecer tanto a nivel profesional como personal. A amigos como Alejandra Cifuentes, Alexandra Torres, Edgar Avendaño, Iván Robayo y María García que hicieron del desarrollo de mi tesis un proceso ameno, enriquecedor e inolvidable. A profesores como Coco Okio, Jesús Agreda y Pedro de Brito, por sus comentarios y sugerencias siempre muy objetivas y pertinentes.

De igual forma agradezco a todos los amigos y familiares que me acompañaron desde el inicio hasta el final de la maestría en todos los momentos malos y buenos. En especial a mi papá, Rodrigo Pérez Monroy y a mi mamá, Gilma Rodríguez Marulanda, por su apoyo incondicional y palabras de consuelo en momentos difíciles. Y a mis amigos de siempre, en especial a Diego Cote por sus sugerencias y críticas siempre muy adecuadas y directas.

Resumen

El desarrollo de actividades humanas que aumentan el contenido de arsénico en matrices ambientales como suelos y sedimentos es una causa de preocupación que debe ser sujeta a estrategias de caracterización y optimización que permitan su diagnóstico eficiente. En este trabajo se emplean técnicas de análisis multivariado como análisis por componentes principales (ACP) y análisis de correlaciones (AC), para hacer un diagnóstico de sondeo del distrito minero de Vetas-California en cercanías al páramo de Santurbán, Santander, Colombia. El uso de estas técnicas multivariadas mostró la posible existencia de al menos 3 formas de enriquecimiento de arsénico en los sedimentos de la zona y dio nuevas pautas a tener en cuenta en estudios posteriores. Adicionalmente se empleó el diseño de experimentos (de sondeo y optimización) para el desarrollo de una metodología de extracción de arsénico asistida por ultrasonido (EAU) empleando material certificado y contraste con metodologías normalizadas. El uso del diseño de sondeo de Plackett-Burman, mostró la alta influencia de la concentración del extractante y el tiempo de extracción, y el uso del diseño central compuesto permitió obtener unas condiciones óptimas de 2 min para el tiempo de sonicación y HNO_3 0,12 M para la concentración del extractante, valores mucho más eficientes que los sugeridos por la metodología tradicional (EPA 3050b).

Palabras clave: Arsénico, Diseño de Experimentos, Análisis Multivariado, Extracción asistida por ultrasonido, Suelos y sedimentos.

Abstract

The development of human activities that increase the content of arsenic in environmental matrices such as soils and sediments is a cause of concern that should be addressed through characterization and optimization strategies that allow an efficient diagnostic. In this work multivariate analysis like principal component analysis (PCA) and correlation analysis (AC) techniques are used, to make a diagnostic of the Vetas-California mining district located nearby the páramo of Santurbán, Santander, Colombia. Using these multivariate techniques It was showed the possible existence of at least 3 forms of enrichment of arsenic in the sediments of the area and gave new guidelines to take into account in future studies. Additionally, the design of experiments (screening and optimization) for the development of a methodology for the ultrasound assisted extraction (UAE) of arsenic using certified material and contrasting with standard methodologies was used. The Plackett-Burman design of screening, showed high influence of the concentration of the extractant and the extraction time. The use of central composite design allowed to obtain optimal conditions for 2 min for sonication time and HNO₃ 0, 12 M for the concentration of the extractant. These conditions were more efficient than those suggested by the traditional methodology (EPA 3050b).

Keywords: Arsenic, Design of Experiments (DoE), Multivariate Analysis, Ultrasound Assisted Extraction. Soils and Sediments.

Contenido

Introducción	19
1. Determinación de Arsénico en suelos y sedimentos: Diseño de Experimentos	23
1.1 Marco Teórico	24
1.1.1 Extracción de Arsénico en Su/Se.....	24
1.1.2 Determinación de arsénico.....	28
1.1.3 Diseño de experimentos en extracción y cuantificación.....	34
1.1.4 Validación de la metodología de extracción y cuantificación de Arsénico	37
1.2 Procedimiento Experimental.....	40
1.2.1 Instrumentación	40
1.2.2 Materiales y reactivos.....	40
1.2.3 Optimización y validación de la cuantificación.....	42
1.2.4 Optimización y validación de la Extracción.....	45
1.2.5 Diseño de experimentos en la extracción y cuantificación de As en Su/Se	45
1.2.6 Software y metodologías estadísticas.....	48
1.3 Resultados y Análisis de Resultados.....	49
1.3.1 Proceso de cuantificación.....	49
1.3.2 Proceso de extracción.....	60
1.4 Conclusiones	64
2. Caracterización de Arsénico en suelos y sedimentos: Análisis multivariado ...	65
2.1 Marco Teórico	66
2.1.1 Especies de As en Su/Se.....	67
2.1.2 Reacciones de desorción.....	70
2.1.3 Impacto ambiental	71
2.1.4 Indicadores de contaminación.....	74
2.1.5 Análisis estadístico de As en Su/Se.....	75
2.2 Procedimiento Experimental.....	80
2.2.1 Zona de estudio	80
2.2.2 Muestreo	80
2.2.3 Parámetros Analíticos	82
2.2.4 Análisis estadístico	83
2.3 Resultados y Análisis de Resultados.....	84
2.3.1 Índices de contaminación (I_{geo} , FE).....	88
2.3.2 Análisis de correlaciones (AC)	89
2.3.3 Análisis por componentes principales (ACP).....	95
2.4 Conclusiones	101
2.5 Anexos.....	103
2.5.1 Anexo 1: Información del muestreo.	103
2.5.2 Anexo 2: Resultados obtenidos para AS y Su/Se	105
Referencias.....	107

Lista de figuras

Figura 1-1 Espectrofotómetro de absorción atómica con generador de hidruros en discontinuo. (a) Gas de arrastre (b) Agente reductor (c) celda de reacción (d) dispositivo de secado (e) Espectrofotómetro. De izquierda a derecha, fuente, celda de cuarzo (camino óptico) y detector. (f) Computador y registro de la señal.	30
Figura 1-2 Rango experimental del diseño central compuesto	36
Figura 1-3 a) ultrasonido Neytech Ultrasonik™ 19H, b) esquema de corte lateral.....	46
Figura 1-4 Curva de calibración metodología reportada previa a la optimización.	50
Figura 1-5(I) “ <i>Half normal plot</i> ” y (II) gráfica de efectos principales, para (a) el área promedio con n=9 (intensidad) y (b) el coeficiente de variación del área con n=3 (variabilidad).....	51
Figura 1-6 Determinación de condiciones óptimas para la cuantificación de arsénico utilizando la función φ . Los círculos negros muestran todas las iteraciones hasta converger a las condiciones óptimas (9,05 mL de NaBH ₄ y concentración 2 M de HCl). En azul se muestra la función de la intensidad en la señal y en rojo la función de dispersión.....	53
Figura 1-7 Gráfico de Área en función de la concentración para arsénico, para evaluar el rango lineal (AAAnalyst 300/MHS-15).	55
Figura 1-8. Curva de calibración promedio (n=19) para la determinación de As con rango de varianza para cada nivel en la calibración (AAAnalyst 300/MHS-15).....	56
Figura 1-9. Curva de calibración promedio para la determinación de As con rango de varianza para cada nivel en la calibración ContrAA 700/HS-55.	57
Figura 1-10 Curva de calibración promedio para la determinación de As con rango de varianza para cada nivel en la calibración ContrAA 700/HS-55.	58
Figura 1-11 Carta de control para el proceso de cuantificación de arsénico por generación de hidruros. Donde la línea central corresponde al promedio de las muestras, las líneas azules son los límites de alerta ($\bar{x} \pm 2s$), y las líneas rojas los límites de acción ($\bar{x} \pm 3s$).59	
Figura 1-12 Gráfica de Pareto para la extracción de arsénico usando como respuesta el coeficiente de variación.	60

Figura 1-13 Gráfica de Pareto para la extracción de arsénico usando como respuesta el porcentaje de recuperación.	61
Figura 2-1. Diagrama de Pourbaix para arsénico. El recuadro punteado muestra el rango de pH y potencial redox más común en fuentes hídricas naturales.	66
Figura 2-2. Mapa zona de muestreo [Ref]. Se: Sedimento activo (*Sedimento seco), AS: Agua Superficial.	81
Figura 2-3. Concentración relativa de arsénico para sedimentos y aguas superficiales a lo largo del río Suratá. AS: Agua superficial, Sed: Sedimentos.	86
Figura 2-4. Concentración relativa de arsénico para arsénico pseudototal (As), en agua superficial ($As_{(AS)}$), extraído con agua desionizada ($As_{(H_2O)}$), extraído con ácido clorhídrico ($As_{(HCl)}$) y extraído con hidróxido de sodio $As(NaOH)$	87
Figura 2-5 Boxplot del Índice de Geoacumulación (Igeo) y Factor de enriquecimiento (FE) Para los elementos con enriquecimiento/contaminación igual o superior a moderado. El rombo (\diamond) muestra el valor promedio y el círculo (\circ) marca los datos anómalos o outliers para cada distribución. La línea roja muestra el límite por encima del cual se considera que hay una contaminación severa.	88
Figura 2-6 Valor-p de la prueba de Shapiro-Wilk para los factores medidos en sedimentos y agua superficial. La línea horizontal señala el valor-p=0,05.	89
Figura 2-7 Dendograma de los factores analizados para suelos y sedimentos, usando correlaciones de Spearman.	92
Figura 2-8 Dendograma de los factores analizados para aguas superficiales (AS), usando correlaciones de Spearman.	93
Figura 2-9 Dendograma de los factores analizadas para sedimentos (Se) y aguas superficiales (AS), usando correlaciones de Spearman.	94
Figura 2-10 Gráfica de scores de los componentes CP1 vs CP2 para (a) sedimentos, (b) aguas superficiales, (c) combinación de las 2 matrices y (d) todas las anteriores.	98
Figura 2-11. Gráfica de scores de los componentes CP1 vs CP3 para (a) sedimentos, (b) aguas superficiales, (c) combinación de las 2 matrices y (d) todas las anteriores.	99
Figura 2-12 Gráficos de radar para los puntos a lo largo del Río Suratá.	100

Lista de tablas

	<u>Pág.</u>
Tabla 1-1 Métodos de extracción de arsénico comúnmente empleados.....	24
Tabla 1-2 Técnicas más usadas en la cuantificación de arsénico en suelos y sedimentos.	28
Tabla 1-3 Comparación entre los equipos de absorción atómica disponibles.	40
Tabla 1-4 Soluciones de ácido clorhídrico utilizadas para la cuantificación y extracción de arsénico.....	41
Tabla 1-5 parámetros iniciales para la cuantificación de Arsénico por AA-GH.....	42
Tabla 1-6. Codificación para los niveles de las variables evaluadas.	43
Tabla 1-7 Diseño factorial 2 ³ para determinar la influencia de la concentración de HCl y THB	43
Tabla 1-8 Diseño Factorial con puntos centrales 2 ² para la optimización de la cuantificación de arsénico por generación de hidruros.....	43
Tabla 1-9 Codificación para los niveles de las variables evaluadas.	46
Tabla 1-10. Matriz de diseño de Plackett-Burman para el sondeo de variables significativas en la extracción de arsénico asistida por ultrasonido.	47
Tabla 1-11 Estadísticas del modelo de regresión lineal para la metodología antes de optimizar.....	50
Tabla 1-12 Modelos encontrados para la intensidad y dispersión en la señal, utilizando el diseño experimental de la tabla 2-8.....	52
Tabla 1-13 Comparación del área con y sin agente reductor (KI).	54
Tabla 1-14 Prueba t para la verificación de la concentración característica de chequeo reportada por el proveedor, asumiendo varianzas iguales.....	55
Tabla 1-15. Tabla de ANOVA para la curva de calibración de arsénico (AAnalyst 300/MHS-15).	56
Tabla 1-16 Límite de detección y cuantificación (AAnalyst 300/MHS-15).....	57
Tabla 1-17 Tabla de ANOVA para la curva de calibración de arsénico ContraA 700/HS-55.....	58

Tabla 1-18 Límite de detección y cuantificación (AAAnalyst 300/MHS-15).....	59
Tabla 1-19. Ensayo interlaboratorios para la verificación de la metodología de cuantificación de arsénico.	60
Tabla 1-20 Niveles empleados en el diseño central compuesto DCC y su transformación logarítmica.....	62
Tabla 1-21 Resultados obtenidos para los modelos de extracción por DCC.....	62
Tabla 1-22 Prueba t para el valor real y el valor obtenido por la técnica de extracción optimizada en el actual estudio.	63
Tabla 2-1. Capacidad máxima de retención de arsénico (III) y (V) en diferentes minerales[36].....	68
Tabla 2-2. factores fisicoquímicos determinados a las muestras de Su/Se y aguas superficiales[44].	82
Tabla 2-3. Resumen resultados Su/Se y aguas superficiales cuenca alta del río Suratá.	85
Tabla 2-4 Factores con magnitud de <i>loadings</i> superior a 0,60 para cada CP en sedimentos, aguas superficiales, y la combinación de los dos. Las dos rayas verticales () Dividen los factores de contribución positiva (derecha) de los de contribución negativa (izquierda)	95
Tabla 2-5. Descripción y ubicación de las aguas superficiales muestreadas[58].	103
Tabla 2-6. Descripción y ubicación de los suelos/sedimentos muestreados.....	103
Tabla 2-7 Resultados propiedades fisicoquímicas y elementos traza para las aguas superficiales (AS).....	105
Tabla 2-8. Resultados propiedades fisicoquímicas, elementos mayoritarios y elementos traza para Suelos y Sedimentos (Su/Se).	106

Lista de Símbolos y abreviaturas

Símbolos con letras latinas

Símbolo	Término
U_i	Factor no codificado
x	Valor rango experimental
X	Factor general
X_i	Factor codificado
y	Restpuesta

Símbolos con letras griegas

Símbolo	Término	Definición
ρ	Coeficiente de correlación de Spearman	$\rho_{xy} = 1 - \frac{6 \sum_{i=1}^n (d_i^2)}{n^3 - n}$
φ	Modelo de optimización	$\varphi = \left(y_a + \frac{1}{y_b} \right) \left(1 - \frac{(x_1^2 + x_2^2)}{k^2} \right)$

Subíndices

Subíndice	Término
B	Blanco de procedimiento
C	Muestra
i	Número del component
H2O	Extraído con agua ajustada a pH 5,0 con ácido acético por 24 h
HCl	Extraído con ácido clorhídrico 1,0 M por 20 min
NaOH	Extraído con hidróxido de sodio 0,10 M por 17 h
EAU	Extraído con agua regia y ultrasonido por 54 min

Superíndices

Superíndice	Término
+	Nivel alto.
-	Nivel bajo.

Abreviaturas

Abreviatura	Término
<i>AAGH</i>	Absorción Atómica con Generación de Hidruros
<i>AC</i>	Análisis de Correlaciones
<i>ACJ</i>	Análisis de Conglomerados Jerarquizados
<i>ACP</i>	Análisis de Componentes Principales
<i>AS</i>	Agua Superficial
<i>BCR</i>	Comunidad Bureau de referencias
<i>CRM</i>	Material de Referencia Certificado
<i>EAU</i>	Extracción Asistida con Ultrasonido
<i>EPA</i>	Agencia Protectora del Ambiente
<i>FE</i>	Factor de Enriquecimiento
<i>Igeo</i>	Índice de Geoacumulación
<i>LDM</i>	Límite de Detección del Método
<i>LCM</i>	Límite de Cuantificación del Método
<i>MAT</i>	Materiales para el control del calidad
<i>NAA</i>	Análisis de Activación Neutrónica
<i>NIST</i>	Instituto Nacional de Estándares y Tecnología.
<i>%Rec</i>	Porcentaje de Recuperación
<i>Se</i>	Sedimento
<i>Su</i>	Suelo
<i>THB</i>	Tetrahidroborato

Introducción

El plan de desarrollo económico en nuestro país tiene como uno de sus ejes fundamentales el aumento de la explotación minera con la promoción de políticas tan controversiales como la “*locomotora minera*”[1]. El aumento de proyectos de explotación minera a gran escala ha traído consecuencias inevitables sobre la calidad del medio ambiente. La preocupación se ha centrado casi que exclusivamente en la presencia de mercurio utilizado en la minería artesanal[2]. Esto claramente justificado por los niveles de contaminación alcanzados, que identificaron en el nordeste antioqueño a la población con mayor contaminación por mercurio del mundo[3]. Los esfuerzos a nivel nacional y regional han logrado la disminución del uso de este metal con la consecuente disminución en los niveles de contaminación. Sin embargo la generación de residuos mineros sigue presentando riesgos de contaminación por otros elementos.

Los residuos mineros con frecuencia contienen sulfuros promotores de ácidos, elementos tóxicos y otros contaminantes, generalmente son almacenados sobre grandes superficies al aire libre formando montañas de residuos (escombreras o colas de mina), los cuales originan la principal fuente de contaminación medioambiental asociada a este tipo de actividad[4]. Sin la actuación adecuada y el control de estos residuos, se produce su lixiviación e interacción con el medioambiente, hasta el punto, que la contaminación de la superficie y/o las aguas residuales puede perdurar a largo plazo, afectando a ríos y la vida acuática asociada.

El arsénico es uno de los elementos característicos de estos lixiviados mineros que presentan el mayor riesgo para el medio ambiente, considerado por la organización mundial de la salud, como un elemento cancerígeno altamente peligroso para el ser humano[5]. Con el fin de dimensionar la problemática colombiana en relación con este metaloide, recientemente nuestro grupo de investigación recopiló la información más relevante sobre los estudios hechos en el país[6]. En este estudio se asoció las

concentraciones anormales de arsénico no solamente con la minería sino con otras actividades antropogénicas como la agricultura por el uso de pesticidas arsenicales. Dentro de los estudios realizados, los departamentos de Chocó, Antioquia, Santander, Tolima y Cundinamarca se identificaron como los más afectados.

El aumento de la concentración de arsénico en matrices ambientales va a depender de sus interacciones fisicoquímicas con los componentes de cada matriz. Sin embargo, el nivel de contaminación de este metaloide en zonas mineras suele ser difícil de caracterizar, ya que las concentraciones elevadas encontradas en estas zonas pueden ser producto de la distribución natural de este metaloide asociada a la cercanía al yacimiento de oro y no a un impacto antropogénico[7]. Para poder determinar cuales son las interacciones características del arsénico con el suelo o sedimento y determinar si altas concentraciones de este metaloide están asociadas a su distribución natural se han empleado técnicas multivariadas que han mostrado una mayor efectividad que técnicas univariadas tradicionales[8-10].

El uso de técnicas multivariadas como análisis por componentes principales (ACP) y análisis de correlaciones (AC) permite relacionar simultáneamente los factores más relevantes en la contaminación de una matriz ambiental. De esta forma se facilita la interpretación de los resultados obtenidos y se puede llegar a conclusiones más adecuadas y pertinentes al caso de estudio.

Sin embargo, un estudio a gran escala al nivel de las necesidades de nuestro país requiere metodologías confiables, económicas y aplicables dentro de las capacidades del investigador. Nuestro grupo de investigación ha venido implementando técnicas de extracción y cuantificación de arsénico en suelos y sedimentos para poder hacer una mejor evaluación de este metaloide en zonas contaminadas.

El método implementado por nuestro grupo de investigación es la extracción asistida con ultrasonido (EAU). La EAU es un método de extracción rápido y emplea extractantes mucho menos oxidantes que metodologías tradicionales[11]. Sin embargo, también se caracteriza por depender de un gran número de factores que afectan la reproducibilidad de la extracción[12]. Para implementar efectivamente un método de EAU es necesario determinar cuales son los factores más relevantes en el porcentaje de recuperación.

Con este fin se han empleado técnicas de optimización multivariadas basadas en el diseño de experimentos[13]. Estas estrategias se dividen en dos etapas: una de sondeo donde se determina cuales de los factores son los más relevantes en el proceso de extracción; y otro de optimización donde se determinan los niveles óptimos de estos factores.

Del mismo modo como es necesario un método de extracción eficiente, se requiere un método de cuantificación confiable para determinar la concentración de arsénico en el extracto producto de la extracción. El método más utilizado actualmente en Colombia[14] es la espectroscopia de absorción atómica por generación de hidruros (AAGH), debido al relativo bajo costo instrumental y al bajo límite de cuantificación. Al igual que la metodología de extracción, el diseño de experimentos también puede ser una herramienta adecuada a la hora de optimizar el proceso de cuantificación de arsénico.

Así, el objetivo principal en este trabajo fue aplicar técnicas multivariadas y de diseño experimental para el estudio de arsénico en suelos y sedimentos. El objetivo esta enmarcado en las necesidades crecientes de prevención y diagnóstico de contaminación por arsénico como consecuencia del desarrollo de actividades mineras en el país. Para su ejecución se trazaron los siguientes objetivos específicos:

1. Establecer relaciones entre factores característicos de suelos y sedimentos, y arsénico pseudototal, empleando Análisis de Correlaciones (AC) y Análisis de Componentes Principales (ACP).
2. Identificar posibles fuentes de contaminación de arsénico en suelos y sedimentos empleando Análisis por Componentes Principales (ACP).
3. Identificar las diferentes formas de interacción del Arsénico con suelos y sedimentos utilizando Análisis de Correlaciones (AC) y Análisis de Componentes Principales (ACP).
4. Emplear el diseño de experimentos de sondeo de Plackett-Burman para identificar los factores más relevantes en la extracción asistida por ultrasonido y la cuantificación por absorción atómica con generación de hidruros de arsénico en suelos y sedimentos.

5. Determinar las condiciones óptimas de los factores que más afectan los procesos de extracción asistida por ultrasonido y cuantificación por absorción atómica con generación de hidruros empleando el Diseño Central Compuesto (DCC).
6. Desarrollar una metodología analítica para la cuantificación de arsénico en suelos y sedimentos empleando las condiciones óptimas determinadas y comprobar su efectividad por comparación con metodologías normalizadas.

Para alcanzar los objetivos trazados, se utilizó la información generada en un estudio realizado previamente en el grupo de investigación sobre la presencia de arsénico en suelos y sedimentos en el distrito minero de Vetas-California en cercanías del páramo de Santurbán, Santander Colombia y la colaboración del instituto mineralógico Colombiano y el Centro Atómico Bariloche para el contraste de la metodología desarrollada.

El alcance de este trabajo es mostrar las bondades del análisis multivariado en el desarrollo de metodologías que permitan la caracterización y optimización de técnicas de extracción y cuantificación de arsénico en matrices ambientales, concretamente en suelos y sedimentos, en aras de disponer de metodologías robustas en el estudio de arsénico en zonas potencialmente contaminadas para futuras investigaciones.

1. Determinación de Arsénico en suelos y sedimentos: Diseño de Experimentos

1. Determinación de Arsénico en suelos y sedimentos: Diseño de Experimentos	23
1.1 Marco Teórico	24
1.1.1 Extracción de Arsénico en Su/Se	24
1.1.2 Determinación de arsénico	28
1.1.3 Diseño de experimentos en extracción y cuantificación	34
1.1.4 Validación de la metodología de extracción y cuantificación de Arsénico	37
1.2 Procedimiento Experimental	40
1.2.1 Instrumentación	40
1.2.2 Materiales y reactivos	40
1.2.3 Optimización y validación de la cuantificación	42
1.2.4 Optimización y validación de la Extracción	45
1.2.5 Diseño de experimentos en la extracción y cuantificación de As en Su/Se	45
1.2.6 Software y metodologías estadísticas	48
1.3 Resultados y Análisis de Resultados	49
1.3.1 Proceso de cuantificación	49
1.3.2 Proceso de extracción	60
1.4 Conclusiones	64

La efectividad en el seguimiento y análisis de arsénico en el medio ambiente depende fundamentalmente de dos procesos igualmente importantes: El establecimiento de una zona de muestreo que brinde información significativa sobre los procesos que potencialmente pueden afectar su concentración y la capacidad de extraerlo, detectarlo y cuantificarlo de una forma eficiente, exacta y precisa. En este capítulo se muestra el desarrollo de una metodología de extracción, detección y cuantificación de arsénico en suelos y sedimentos usando extracción asistida por ultrasonido y espectrofotometría de absorción atómica con generador de hidruros.

1.1 Marco Teórico

En el capítulo 1 se mostró como a partir del análisis estadístico multivariado se pueden determinar posibles fuentes y formas de enriquecimiento de arsénico en sedimentos. Sin embargo, el análisis mostrado corresponde a un estudio de sondeo. Debido a esto, en este estudio, se pretende optimizar/validar una metodología de análisis de arsénico como preparación a un estudio de mayor envergadura en el contexto y alcance del Laboratorio de Química Ambiental del Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia.

1.1.1 Extracción de Arsénico en Su/Se

Uno de los pasos determinantes en la determinación de arsénico es su extracción de la matriz sólida. Los métodos más empleados son los que utilizan la extracción pseudototal mostrados en la Tabla 1-1

Tabla 1-1 Métodos de extracción de arsénico comúnmente empleados.

Referencia	Método de extracción	Método de análisis	%Rec	%CV
US-EPA 206-5 (1974)	H ₂ SO ₄ -HNO ₃	AAS	NA	NA
US-EPA 7060A, (1994)	H ₂ O ₂ -HNO ₃	GF-AAS	NA	NA
US-EPA 3050B, (1996)	HNO ₃ -HCl	GF-AAS/ICP-MS	100-102 %	NA
USGS (1999)	HNO ₃ -H ₂ O ₂ -H ₂ SO ₄ - HF-HCl	HG-FAAS	NA	NA
CLG-ARS.03 (2001)	HNO ₃ -HCl	AAS	80-110%	10
Marin et al (2001)	HNO ₃ -H ₂ SO ₄ -HClO ₄	AAS	96±3 %	NA
Marin et al (2001)	HNO ₃ -HCl	AAS	74±1 %	NA

AAS: Espectrofotometría de absorción atómica, GF-AAS: Espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito, HG-FAAS: Espectrofotometría de absorción atómica por generación de hidruros. %Rec: Porcentaje de recuperación.

En nuestro país la extracción de arsénico se realiza principalmente a través de digestión ácida por vía húmeda a altas temperaturas, Así lo demuestra el informe de laboratorios acreditados por el IDEAM 2015, donde de los 5 laboratorios que alcanzaron la acreditación 4 emplean el método EPA 3050 B[14].

Este método de extracción se caracteriza por usar una mezcla de ácidos (agua regia) y altas temperaturas ($\geq 95^{\circ}\text{C}$), (Tabla 1-1) que generan una gran cantidad de vapores ácidos altamente irritantes y corrosivos. Además de ser peligrosa la metodología emplea más de 2 horas de tiempo de extracción y una constante intervención del analista[15] lo que la hace dispendiosa.

Para acelerar el proceso de extracción y maximizar su rendimiento se ha empleado la metodología EPA 3051A, extracción cerrada asistida por microondas[16]. El uso de esta metodología disminuye el tiempo de extracción a aproximadamente 10 min y minimiza las pérdidas comúnmente encontradas en sistemas abiertos. Sin embargo, el extractante empleado continua siendo mezclas ácidas con las mismas desventajas mencionadas en la metodología EPA 3050 B.

Otra fuente energética empleada en la asistencia de procesos de extracción es el ultrasonido. El método EPA 3550 C por ejemplo, emplea una fuente de ultrasonido para la extracción de compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles de matrices sólidas[17], otros estudios lo emplean para la extracción de pectina y compuestos polifenólicos de matrices orgánicas[18-20], y aunque no existen metodologías normalizadas, la extracción asistida con ultrasonido (EAU) también ha sido empleada en la extracción de metales y metaloides de suelos y otras matrices de origen ambiental[11, 21-24].

Estas metodologías de EAU han mostrado ser efectivas en la reducción del tiempo de extracción (< 10 min) tanto en metodologías de extracciones pseudototales[11] como en extracciones secuenciales o monoetapa[23, 24], requieren por lo general el uso de soluciones extractantes menos corrosivas y simplifica la extracción al requerir una menor cantidad de operaciones para completar el proceso. Estos factores sumados al bajo costo de la instrumentación hacen de la EAU una alternativa viable para el desarrollo de metodologías de extracción en suelos y sedimentos.

2.1.1.1 Extracción asistida por ultrasonido EAU

La extracción asistida por ultrasonido se basa en la aplicación de altas intensidades de sonido ($>10\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$) a una muestra sólida sumergida en una solución extractante. A medida que las ondas de sonido se transportan por el medio, la distancia entre moléculas oscila alrededor de un valor medio, cuando la presión causada por la onda ultrasónica es lo suficientemente grande, la distancia entre las moléculas que compone el líquido excede la distancia molecular mínima requerida para mantener el líquido intacto, lo que ocasiona que el líquido se rompa y genere vacío[12]. Estas burbujas de vacío son conocidas como burbujas de cavitación. Al estallar, las cavitaciones generan microambientes extremos (5000°C , 2000 atm) que pueden ser usados en la extracción de analitos de interés.

Las cavitaciones tienen muchas aplicaciones desde tratamientos médicos, hasta procesos de limpieza de superficies[25]. Sin embargo, se trata de un fenómeno altamente complejo. Su control y modelamiento involucra una gran diversidad de procesos físicoquímicos marcadamente no lineales, que bajo ciertas condiciones experimentales resulta en oscilaciones caóticas sin importar que tan cuidadosamente se fijen los parámetros experimentales[26].

A pesar de las dificultades conceptuales inherentes a la aplicación del ultrasonido en los métodos de extracción, su implementación en procesos químicos ha sido estudiada de forma cuantitativa. Así por ejemplo, Nascentes y colaboradores[27], emplearon dos baños ultrasónicos diferentes para evaluar el efecto de variables como: temperatura, volumen de agua en el baño, posición vertical y horizontal, intensidad, etc, en la producción de yodo molecular vía reacciones radicalarias. Dentro de los resultados obtenidos se obtuvieron condiciones óptimas para la generación de cavitaciones (indicadas por la concentración de yodo molecular generado), con un coeficiente de variación menor al 10%. En el desarrollo de procesos de extracción asistida por ultrasonido, se encontraron recuperaciones superiores a 70%[4, 24] para As, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn, usando diferentes materiales de referencia (BCR 483 y NIST 8704) con un coeficiente de variación menor a 30%. Adicionalmente, la EAU ha sido comparado con otros métodos de extracción normalizados como la extracción asistida por microondas, dando resultados equivalentes para Mg, Mn y Zn[11].

2.1.1.2 Parámetros que afectan la EAU

En el desarrollo de metodologías de EAU para la determinación de metales y metaloides se deben identificar los parámetros que pueden afectar el rendimiento y precisión del proceso. Estudios previos han mostrado diferentes interpretaciones del proceso de extracción, de donde se han definido las variables que se cree afectan de manera significativa la aplicación de la metodología de extracción. Para Filgueiras et al[11], por ejemplo, el tiempo de sonicación, el volumen de extractante, la amplitud del ultrasonido, la cantidad de muestra y su tamaño de partícula, la concentración y la cantidad y composición del extractante, fueron variables consideradas en la optimización, mientras que De la Calle et al[24], solo considero el tiempo de extracción y formas de aplicación del ultrasonido. Así mismo en otros estudios se han evaluado otros parámetros considerados importantes para la efectividad de la EAU.

Aunque existen diferentes interpretaciones de cuáles deben ser las variables seleccionadas para el desarrollo del método de extracción, se debe considerar inicialmente todas las variables que pueden afectar el proceso. Para la EAU, la generación de cavitaciones, los procesos de transporte de la matriz sólida (que a partir de ahora será considerada como suelo o sedimento Su/Se) a la líquida y el contacto entre las cavitaciones y el Su/Se, son los procesos a tener en cuenta.

Como se comentó previamente, la generación de cavitaciones es un proceso físico, y depende esencialmente de la frecuencia, intensidad, temperatura, presión externa y burbujas de gas en el medio y forma de aplicación del ultrasonido[12]. El transporte de arsénico del Su/Se a la solución extractante depende de la solubilidad de las especies de arsénico presentes en el medio, que a la vez depende de la naturaleza de la matriz sólida (composición y tamaño de partícula) y de las condiciones del extractante (composición, concentración, temperatura y cantidad). Por último, el contacto entre la matriz sólida y las cavitaciones va a depender del ambiente donde ocurre la extracción (recipiente que contiene la muestra, cantidad de recipientes u otros objetos en el baño, distancia a la fuente de ultrasonido y el tamaño de partícula de la muestra).

1.1.2 Determinación de arsénico

Existe una gran diversidad de técnicas analíticas que permiten determinar arsénico en Su/Se. En la Tabla 1-2 se muestra una comparación entre las principales características analíticas de las técnicas más comúnmente empleadas.

Tabla 1-2 Técnicas más usadas en la cuantificación de arsénico en suelos y sedimentos.

Técnica	Parámetro					
	LDM ^a ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	LCM ^b ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	%RSD ^c	%Rec ^d	Interferencias	Referencia
AA-GH	0,02	1	9	93	Cr, Cu, Hg, Ni, Ag, Co y Mo. $400 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	EPA 7061
NAA	0.01	0,16- 0,32	6	93	Otros metales de transición, arsénico orgánico.	[28]
GF-AA	0,01	1	≤ 25	75-125	Perdidas por volatilidad del As, Al.	EPA 7010
ICP-MS	0,02	75	2,2-3	101,6	Viscosidad del extracto, Al, Cr y V, ArCl^+	EPA 200.8
XRF	40	-	$\leq 22,5$	68-535	Usuario, tamaño de la partícula, humedad, Pb 10:1, Instrumento	EPA 6200
ASV	0,1	0,3	5-14	93-106	Cu, Bi, Sb $>1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, matrices complejas.	EPA 7063

(a) Límite de detección del método (b) Límite de cuantificación del método (c) coeficiente de variación para Su/Se. (d) porcentaje de recuperación para Su/Se

AA-GH: Absorción atómica con generación de hidruros.

NAA: Análisis de activación neutrónica.

GF-AA: Absorción atómica con horno de grafito.

ICP-MS: Espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente.

XRF: Fluorescencia de rayos-x.

ASV: Voltametría de redisolución anódica

La Tabla 1-2 muestra algunas de las técnicas analíticas más utilizadas para cuantificar As. La pertinencia de usar una u otra depende de los recursos y las necesidades que se

tengan. Así, técnicas como XRF pueden ser más útiles que ICP-MS, para hacer una estimación rápida de muestras con una alta concentración de As y que requieren la determinación de otros elementos a pesar de tener peor coeficiente de variación y porcentaje de recuperación, mientras que las técnicas de absorción atómica (AA-GH y GF-AA), permiten determinar la concentración de As en niveles traza, y es altamente selectiva, pero el análisis en la mayoría de los casos es uni-elemental. Por otro lado, las técnicas electroquímicas como ASV, es altamente sensible pero presentan interferencias por matriz de alta complejidad.

En este trabajo la metodología empleada en el análisis de extractos de Su/Se fue la espectroscopía de absorción atómica con generación de hidruros (AA-GH). La AA-GH ha sido ampliamente implementada en el análisis de este tipo de matrices, tiene un bajo límite de detección-cuantificación y pocos interferentes bajo las condiciones naturales de un suelo[29]. Adicionalmente, es la técnica más empleada en los laboratorios de consultoría ambiental Colombianos según el informe emitido por el IDEAM en el 2015[14], lo que permite desarrollar formas de optimización que puedan ser aplicadas en el contexto de las necesidades del país. Por último, el Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia, cuenta con la instrumentación necesaria para ejecutar los ensayos de validación de la metodología analítica.

1.1.2.1 Absorción Atómica - Generación de Hidruros AA-GH

La AA-GH es un proceso de absorción atómica muy bien establecido. Sin embargo, dado que en este trabajo se va a optimizar la señal obtenida por esta técnica, es necesario describir en detalle su principio, así como todas las variables que pueden ser relevantes en el proceso de extracción.

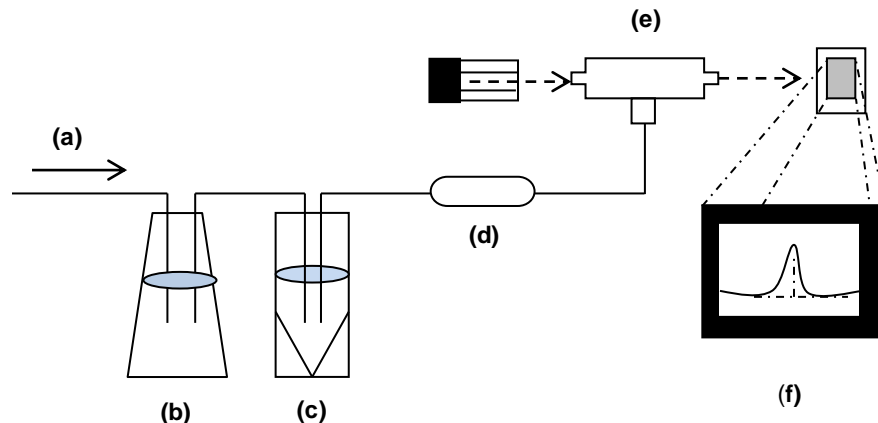


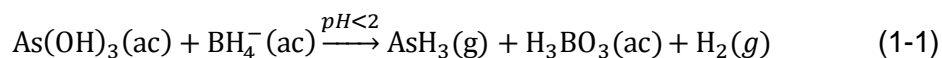
Figura 1-1 Espectrofotómetro de absorción atómica con generador de hidruros en discontinuo. (a) Gas de arrastre (b) Agente reductor (c) celda de reacción (d) dispositivo de secado (e) Espectrofotómetro. De izquierda a derecha, fuente, celda de cuarzo (camino óptico) y detector. (f) Computador y registro de la señal.

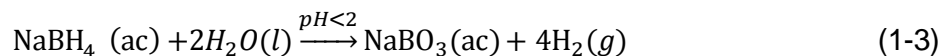
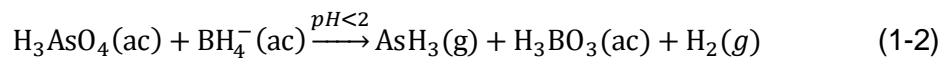
El procedimiento de cuantificación del As por AA-GH consta de 5 etapas:

i. Reducción de Arsénico

Debido a que la mayoría de los procedimientos de extracción se dan bajo condiciones altamente oxidantes, la concentración de arsénico presente en el extracto de Su/Se pasa en su mayoría a forma inorgánica. Previa a la generación de la arsina, en la mayoría de métodos normalizados, se emplea yoduro de potasio (KI) como agente pre-reductor[30], lo que permite tener la totalidad del arsénico en la forma reducida As (III).

El mecanismo de generación de hidruros volátiles se da por relación con tetrahidroborano (THB) en medio ácido, y ha sido caracterizado para arsénico en sus dos estados de oxidación[31]. En ambos casos la reacción se da por transferencia protónica a través de la formación de diferentes complejos de coordinación con el THB en medio ácido. Además de la formación de la arsina, la hidrólisis del THB es catalizada en medio ácido por lo que independientemente de la concentración de arsénico, bajo condiciones ácidas se va a generar una gran cantidad de hidrógeno molecular. El proceso de reducción global se muestra en la ecuación 2-1 para el arsenito y en la 2-2 para el arsenato[32], y en la ecuación 2-3 se muestra la hidrólisis del THB en medio ácido:





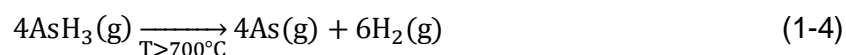
La acidez del medio es necesaria para activar el sustrato (arsenato o arsenito) hacia la transferencia protónica[31]. Para alcanzar las condiciones de acidez normalmente se emplea ácido clorhídrico concentrado (5 mol.l^{-1})[33].

ii. Arrastre de la arsina

La arsina es llevada de la celda de reacción a la celda de cuarzo por un gas de arrastre inerte, normalmente nitrógeno o argón. La función de este gas de arrastre, es generar la presión necesaria para llevar la arsina a lo largo del sistema hasta el camino óptico. Durante el transporte de la arsina se utiliza uno o más dispositivos de secado para eliminar cualquier rocío generado por la efervescencia de la reducción[34]. El flujo del gas de arrastre debe ser lo suficientemente alto para transportar la arsina a la celda de cuarzo durante la medida, pero también debe permitir un tiempo de residencia lo suficientemente alto para que se lleve a cabo la descomposición térmica a arsénico elemental y el proceso de absorción atómica.

iii. Descomposición de la arsina

La arsina es efectivamente descompuesta a arsénico elemental a altas temperaturas como lo muestra la ecuación 2-4[35].



Para que la arsina se descomponga de forma cuantitativa, se requiere un tiempo de residencia en la celda suficientemente alto. Además, para evitar reacciones indeseadas se debe contar con un gas inerte de alta pureza a un flujo óptimo y una celda de cuarzo libre de interferentes. Concentraciones superiores a 4000 mg.L^{-1} de cobalto, cobre, hierro, mercurio y níquel en la muestra, pueden precipitar la arsina evitando que la descomposición se lleve a cabo[32].

iv. Absorción atómica

Finalmente, en el proceso de absorción atómica se lleva a cabo la cuantificación de arsénico. La longitud de onda de máxima absorción para el arsénico, también conocida como línea principal está a 193.7 nm con un ancho de rendija de 0.7 nm [33]. El proceso

de absorción atómica, como su nombre lo indica se da si el arsénico se encuentra en estado elemental. Por este motivo, la absorción atómica es altamente dependiente de la eficiencia en la descomposición de la arsina.

v. *Lectura de la señal y cuantificación*

La lectura de la señal, se lleva a cabo en el detector donde la luz remanente de la etapa de absorción es registrada y posteriormente traducida para su interpretación. Esta señal consiste en un pico producto de la absorción en función del tiempo de los átomos de arsénico durante su paso por el camino óptico (celda de atomización). Debido a esto, la señal puede ser representada como la altura o el área de pico.

vi. *Uso de AA-GH en el análisis de suelos y sedimentos.*

El uso de AA-GH para la cuantificación de arsénico en Su/Se ha mostrado ser altamente dependiente de los métodos de extracción[29]. Esta característica le da una desventaja en comparación con otros métodos de cuantificación cuya aplicación se hace directamente sobre la matriz sólida (NAA, XRF, entre otros). Adicionalmente, la cantidad de información que suministra la técnica se limita a la concentración de arsénico. Otras técnicas como NAA, ICP-MS y XRF, pueden detectar diferentes elementos de manera simultánea o incluso diferentes especies de arsénico[36].

A pesar de esto, una de las grandes ventajas de la AA-GH en el análisis ambiental, es el uso de instrumentación comúnmente encontrada en los laboratorios de química como lo es el espectrofotómetro de absorción atómica, y los bajos límites de detección alcanzados por la selectividad de la generación de hidruros[29]. Además, esta técnica de cuantificación ha sido empleada con éxito en la determinación de arsénico en minerales[37], suelos y sedimentos afectados por actividades mineras[38], suelos agrícolas[39], sedimentos marinos[40], entre otros tipos de Su/Se alrededor del mundo[41]. Sin embargo, se debe tener en cuenta que la reproducibilidad de AA-GH en montajes manuales (la introducción de THB es hecha por el operario manualmente) está sujeta a optimización.

2.1.2.2 Parámetros que afectan la AA-GH

Para poder desarrollar una metodología de cuantificación efectiva y confiable se deben mantener bajo control todas las variables que pueden afectar de una forma significativa la

exactitud y precisión del instrumento. Estas variables pueden separarse en dos categorías: variables físicas, químicas y otras.

i. Variables físicas

Principalmente de transporte. El flujo del gas de arrastre, el cual entra en contacto con la muestra exclusivamente para transportar la arsina hasta la celda de reacción constituye una de las variables físicas más importantes. Para evitar señales poco reproducibles como producto de un proceso de transporte caótico, es necesario optimizar el flujo del gas de arrastre y la cantidad de hidrogeno molecular generado en la hidrolisis del THB. Además de los flujos de entrada, se debe revisar el agente secante y las conexiones del sistema periódicamente para evitar bloqueos a lo largo del sistema.

Otro factor físico de importancia es la dispersión de la luz por parte de material particulado y/o roció proveniente de la celda de reacción. Para corregir estos efectos indeseados se puede hacer corrección de línea de fondo usando lámparas de deuterio, el efecto Zeeman o la corrección Smith-Hieftje[42]. Estos efectos si bien son ampliamente conocidos, su aplicación debe ser tenida en cuenta en el proceso de optimización.

ii. Variables Químicos

Principalmente cinéticos y termodinámicos, dan cuenta de que proporción del arsénico presente originalmente en el extracto fue reducida y atomizada. El proceso de reducción como se mencionó anteriormente depende de la concentración de THB y HCl en el medio (asumiendo que durante el proceso de extracción todas las especies de arsénico fueron oxidadas a arsenato)[32]. Sin embargo, aunque un exceso de THB favorece la generación de la arsina, una excesiva concentración de ácido clorhídrico puede interferir con su formación al hidrolizar el THB[31].

Otro factor químico que afecta es la temperatura de atomización, que debe ser lo suficientemente alta para que la arsina se descomponga completamente a arsénico elemental, teóricamente de (650 a 700°C)[35].

iii. Factores instrumentales y de software

Si bien, estos factores afectan la medición de arsénico de la misma forma que lo hacen en la determinación de cualquier otro elemento, es necesario tenerlos en cuenta para desarrollar una metodología de cuantificación lo más robusta posible. La elección entre área o altura como respuesta, el tiempo de registro de la señal y el tratamiento de la señal

usando técnicas de suavizado, pueden ser fundamentales para la obtención de una señal representativa y reproducible del proceso[43].

1.1.2.3 Optimización de la señal espectroscópica

El proceso de optimización se realizó para dos espectrofotómetros y difiere radicalmente para cada caso. Por un lado el espectrofotómetro *analyst 300* con módulo de generación de hidruros *MSH 15*, al que se le van a establecer las condiciones óptimas para la señal analítica. La forma escogida para realizar este proceso de optimización es usando el diseño experimental y los modelos de superficie de respuesta mostrados en la sección 2.1.3. Para esta instrumentación dentro del grupo de investigación se desarrolló una metodología de cuantificación empleando un modelo de superficie de respuesta a partir de un diseño central compuesto 2^3 [44]. Sin embargo, si bien la metodología fue empleada con éxito, no ha podido reproducirse en estudios posteriores.

Por otro lado, el *contrAA 700* con módulo de generación de hidruros HS55A cuenta con las condiciones óptimas recomendadas por el fabricante (*Analytik-Jena*) incluyendo, flujo del gas de arrastre, concentración de ácido clorhídrico y THB, volumen de muestra y temperatura de la celda, además reporta un valor de concentración de chequeo que permite una verificación en vez de una optimización.

1.1.3 Diseño de experimentos en extracción y cuantificación

La forma tradicional de evaluar el efecto de una variable en una respuesta analítica es evaluando el cambio en la respuesta al cambiar los valores de la variable de interés, manteniendo las demás constantes[45]. Para que esta estrategia sea efectiva es necesario que el número de variables que afectan el proceso no sea muy grande y por lo tanto se debe garantizar que se están considerando las variables más relevantes. Como se observó en las secciones anteriores estas condiciones no son fáciles de determinar de una forma objetiva, pues en teoría, tanto para la extracción como para la cuantificación hay una cantidad potencialmente grande de variables a optimizar. Un problema adicional de la aproximación univariada es que no tiene en cuenta los efectos de interacciones entre variables o requiere una gran cantidad de experimentos para obtener relativamente poca información[13]. El diseño experimental y el análisis multivariado, permite determinar simultáneamente el efecto y las interacciones de múltiples variables minimizando los

experimentos a su número óptimo permitiendo el desarrollo de metodologías más robustas[46].

1.1.3.1 Codificación de niveles

El diseño de experimentos de dos niveles es el más utilizado y estudiado[47]. En este tipo de experimento se estudian dos niveles que generalmente son identificados como el nivel alto y bajo, codificados como 1 y -1 respectivamente. Dentro de los factores seleccionados en los experimentos de dos niveles, se pueden utilizar variables tanto cuantitativas o cualitativas. Los valores cuantitativos se codifican de la siguiente manera:

$$X_i = \frac{U_i - \bar{U}_i}{\Delta U_i} \quad (1-5) \quad \bar{U}_i = \frac{U_i^+ - U_i^-}{2} \quad (1-6) \quad \Delta U_i = \frac{U_i^+ + U_i^-}{2} \quad (1-7)$$

Donde, X_i corresponde al factor i codificado, U_i^+ al factor original en el nivel alto y U_i^- al factor original al nivel bajo.

1.1.3.2 Diseño de Sondeo

Dentro del diseño experimental, el diseño de sondeo ó *screening*, es empleado cuando el experimentador considera que la cantidad de variables relevantes incluidas en el estudio puede reducirse a un número menor, que posteriormente en metodologías de optimización pueden ser estudiadas a mayor profundidad[48]. Para esto se genera una serie de corridas experimentales, que son usadas en la generación de un modelo que describe el fenómeno estudiado de una forma aproximada. Para este tipo de experimentos se emplean por lo general dos niveles para cada variable experimental, usualmente codificados como ± 1 . En esta notación el signo + representa el nivel alto y el - el nivel bajo[49]. Diversos diseños a dos niveles como el factorial completo (FC), el factorial fraccionado (FF), el Taguchi ortogonal y el Plackett-Burman han sido empleados en la generación de modelos de sondeo[13]. Dentro de estas metodologías el diseño de Plackett-Burman tiene un costo favorable, relativo al número de factores evaluados, puesto que el número de experimentos es el menor número múltiplo de 4 que excede el número de factores analizados. Así, en un sistema donde se tienen 10 variables a evaluar, se requiere un diseño de Plackett-Burman de 12 experimentos para la determinación del efecto principal de la totalidad de las variables. Sin embargo, al ser un diseño experimental saturado (el número de variables es equivalente al número de

coeficientes empleados en el modelo empírico), la interacción entre las variables no se puede determinar de forma tradicional[46].

1.1.3.3 Selección de variables a optimizar

La selección de las variables a optimizar se realiza posterior a la evaluación de los efectos principales de las variables evaluadas en el diseño de sondeo. Para la determinación del efecto principal de cada variable se resta el promedio de la respuesta analítica en cada nivel[45]. Cabe mencionar que el efecto calculado no tiene en consideración la interacción que puedan tener las variables entre sí. La gráfica de Pareto para los efectos principales, es empleada para la evaluación simultánea del efecto principal en múltiples variables, se usa como una estrategia de visualización y dependiendo de los grados de libertad disponibles puede dar información sobre la significancia de las variables[50].

1.1.3.4 Diseño de Optimización

El diseño central compuesto (DCC) es el diseño de experimentos que más se usa para el desarrollo de superficies de respuesta. Los DCC son diseños factoriales con puntos centrales y ampliado con un grupo de puntos axiales (también denominados puntos de estrella) que permiten estimar la curvatura de un modelo[48].

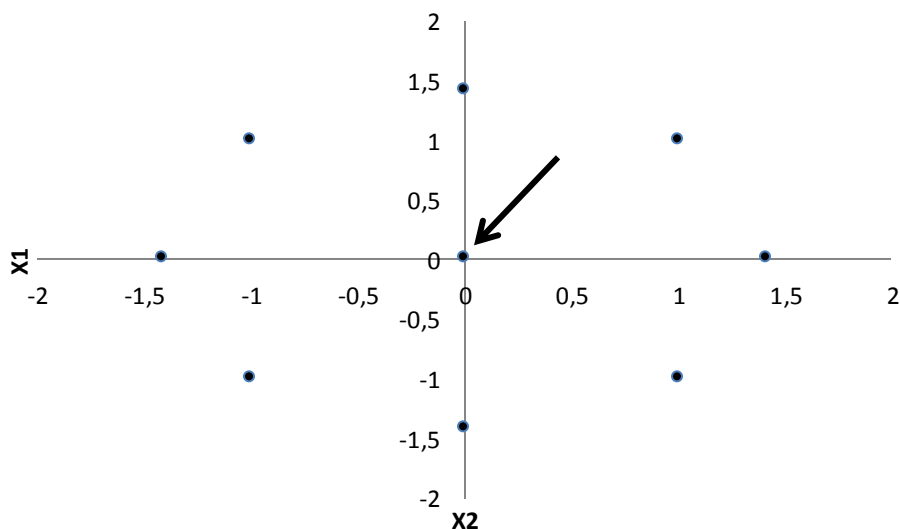


Figura 1-2 Rango experimental del diseño central compuesto

La figura 2-2 muestra los experimentos empleados en el DCC más empleado, conocido como diseño circular para dos variables. Cada eje en la figura, representa el dominio experimental para las variables X_1 y X_2 . Los puntos representan los experimentos ejecutados a los niveles respectivos de X_1 y X_2 . Así, por ejemplo, la flecha muestra el experimento con niveles (0,0). La distribución de los experimentos corresponden a un diseño circunscrito con simetría esférica, lo que le confiere propiedades estadísticas importantes[48].

El DCC se puede usar para:

- Estimar eficientemente los términos de primer orden y segundo orden.
- Modelar una variable de respuesta con curvatura al agregar puntos centrales y axiales a un diseño factorial previamente ejecutado.

Los DCC son especialmente útiles en los experimentos secuenciales, porque frecuentemente permiten ampliar experimentos factoriales anteriores al agregar puntos axiales y centrales.

En el desarrollo de metodologías de extracción se ha empleado el DCC, no solamente para determinar la respuesta óptima, si no también, para describir la influencia de las variables sobre el rendimiento de la extracción.

1.1.4 Validación de la metodología de extracción y cuantificación de Arsénico

El proceso de validación es la forma en la que se confirma que la aplicación de una metodología analítica es pertinente para los analitos de interés y cumple con los criterios de aceptación fijados por el laboratorio de análisis. Dentro de los parámetros más importantes a evaluar están: la exactitud, la recuperación, la precisión, parámetros de calibración, robustez, Interlaboratorios e Incertidumbre.

1.1.4.1 Recuperación

La recuperación consiste en la cantidad porcentual de analito encontrada después de la aplicación del método de extracción y cuantificación a una muestra de referencia cuyas características fisicoquímicas son similares a las muestras a analizar. La muestra o patrón

de referencia debe tener una concentración conocida y certificada del analito objetivo. En los métodos de extracción de arsénico en suelos y sedimentos, la recuperación oscila entre el 70 y 130%[29].

1.1.4.2 Repetibilidad y reproducibilidad

La repetibilidad y reproducibilidad son descripciones de la precisión de resultados de prueba a condiciones bajo las cuales las medidas son hechas[47]. La repetibilidad consiste en la forma de precisión que admite la menor cantidad de variación en las condiciones del ensayo (duplicado instantáneo), mientras que la reproducibilidad evalúa la mayor cantidad de variación en las condiciones del ensayo[51]. La repetibilidad normalmente está dentro del 95% para una distribución normal, y la reproducibilidad para metodologías de extracción de arsénico oscila % en términos de coeficiente de variación (Tabla 1-1).

1.1.4.3 Parámetros de Calibración

A partir del modelo de calibración lineal para la cuantificación de un analito, se puede determinar el rango lineal, el rango de trabajo, el límite de detección del método (LDM) y el límite de cuantificación del método (LCM). El rango lineal consiste en el rango de concentraciones que tienen una relación lineal con la respuesta analítica, mientras que el rango de trabajo, es el rango de concentraciones del analito presentes en la muestra que pueden ser cuantificadas después del proceso de dilución, concentración, etc. El rango lineal para la cuantificación de As por AA-GH por lo general empieza de 1-3 $\mu\text{g.L}^{-1}$ hasta unos 20-50 $\mu\text{g.L}^{-1}$ [34]. El rango de trabajo aunque no suele ser reportado directamente para la cuantificación de As, se muestra en algunos estudios concentraciones tan pequeñas como 0,1 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ y tan altas como 10.000 mg.kg^{-1} [6, 52].

En la validación del modelo lineal se emplea el coeficiente de correlación R^2 , el análisis de residuales y el análisis de varianzas (ANOVA)[53]. El R^2 es un estadístico que da cuenta del grado de correlación entre un par de factores[47]. Sin embargo, cabe aclarar que aunque el R^2 muestre una alta correlación, no siempre esto implica modelos efectivos. En especial a rangos específicos. El análisis de residuales y de varianzas permite una validación más completa del modelo[48].

El LDM y el LCM para metodologías como la EAU con AA-GH, se desarrolla por la medida de 10 blancos de procedimiento (blancos que han pasado por todas las condiciones que normalmente pasa una muestra pero no tienen el analito de interés) para la determinación del promedio de la respuesta base \bar{x}_B y la variación debida a ruido instrumental s_B . A partir de la distribución t, asumiendo que las medidas de los blancos provienen de una distribución normal, se puede decir que una respuesta de $\bar{x}_B + 3s_B$ tiene una probabilidad de 0,13% de pertenecer al grupo de los blancos sin serlo, y un 99,87% de confianza que la respuesta es lo suficientemente mayor a la base como para decir que se detectó el analito (LDM). De manera similar, el LDC que corresponde a $\bar{x} + 10s$, tiene un 99,995% de probabilidad de no pertenecer al grupo de la respuesta base, con lo que se puede tener la suficiente confianza, e intensidad de señal, como para iniciar la cuantificación del analito.

1.1.4.4 Comparación de la metodología desarrollada con métodos normalizados

Para confirmar la efectividad de la metodología desarrollada es conveniente hacer ensayos de interlaboratorios donde se analiza un material de referencia de concentración conocida y certificada. La comparación estadística a través de pruebas de hipótesis (ej. t-student) de los resultados, permite encontrar errores sistemáticos y sesgos que puedan ocurrir en el desarrollo de la metodología analítica y que son difíciles de encontrar sin la comparación entre pares.

1.2 Procedimiento Experimental

1.2.1 Instrumentación

La Tabla 1-3 muestra las características más importantes de los dos espectrofotómetros empleados en este estudio: El AAnalyst 300 con MHS15 de la casa Perkin Elmer (De fuente de líneas o cátodo hueco tradicional) y el ContrAA 700 con HS55 de la casa Analytik Jena (De fuente continua).

Tabla 1-3 Comparación entre los equipos de absorción atómica disponibles.

Instrumento /parámetro	AAnalyst 300/MHS15	ContrAA 700/HS55 [54]
Gas de arrastre	N ₂ (grado 5,0)	Ar (grado 5,0)
Transporte del agente reductor	Por arrastre con N ₂	Bomba peristáltica.
Secante	Mecánico a través de una frita.	Mecánico a través de un capilar secante.
Forma de calentamiento (Celda de Cuarzo)	Llama Aire/Acetileno.	Termoeléctrico
Fuente	Lámpara de cátodo hueco.	Lámpara de Xenón de arco corto.
Corrección de línea de fondo	Lámpara de tungsteno.	Corrección simultanea desde el detector.
Detector	Fotomultiplicador de amplio rango con ventana transmisora UV.	Arreglo de dispositivos de carga acoplada (DCC) con alta eficiencia cuántica y sensibilidad UV intensificada.

La fuente de ultrasonido empleada fue un baño ultrasonico Neytech Ultrasonik™ 19H, de potencia y frecuencia fija de 115W y 44 kHz respectivamente (Burlington, NJ, USA).

1.2.2 Materiales y reactivos

i. Soluciones de lavado y lavado de material:

Todo el material, incluyendo balones aforados, vasos de precipitados, celdas de reacción y celdas de cuarzo fueron lavadas con ácido nítrico al 10% (solución de lavado 1) por no menos de 24 h. Para lavado de las celdas de reacción se empleó ácido nítrico al 1% (solución de lavado 2). En la preparación de estas dos soluciones se utilizó *ácido Nítrico 65% p.a. marca Merck*.

ii. *Preparación de soluciones de THB:*

Las soluciones de THB (Tabla 1-4) fueron preparadas a partir de *tetrahidroborato de sodio al 96%* sólido marca *Panreac*. Con el fin de evitar su hidrólisis las diluciones se llevaron en medio alcalino (0.5-1% p/v NaOH). Para esto se adicionó la cantidad requerida de una solución madre de NaOH al 10% p/v y se llevó a volumen. La solución madre fue preparada a partir de *Hidróxido de sodio sólido al 96% p.a. marca Merck* en agua desionizada y estandarizada con *Biftalato de potasio 99,8% p.a. Merck*.

iii. *Preparación de soluciones de HCl:*

Las soluciones de HCl Tabla 1-4 fueron preparadas a partir de *Ácido Clorhídrico al 37% (12,08 M) p.a. marca Merck*, y llevando a volumen en balones aforados con agua desionizada hasta la concentración deseada.

Tabla 1-4 Soluciones de ácido clorhídrico utilizadas para la cuantificación y extracción de arsénico.

C_2 (M)	C_1 (M)	V_1 (ml)	V_2 (ml)
3,62	12,08	30	100
2,56	12,08	20	100
1,21	12,08	10	100
0,121	12,08	5	500
0,0121	1,21	5	500

1: Concentración y volumen inicial, 2: Concentración y volumen final.

Los volúmenes V_1 fueron medidos con probeta de 100 ± 1 ml para los volúmenes superiores a 5 ml, y con una probeta de $10 \pm 0,1$ ml para volúmenes iguales a 5ml.

iv. *Preparación de solución de KI:*

La solución de KI 10% p/v empleada para verificar el efecto del agente prereducor, fue preparada a partir de $10,0015 \pm 0,0001$ g de *yoduro de potasio 99% marca Mol labs*, disuelto y llevado a volumen en un balón aforado de $100,0 \pm 0,1$ mL con agua desionizada

v. *Preparación de soluciones patrón de As:*

El patrón de partida consistió en 1000 ± 1 mg As/L en *ácido nítrico 1% J.T. Baker Inc* (Patrón 0). Se prepararon diluciones sucesivas 1:10 de este patrón en agua desionizada usando una pipeta aforada de $10,00 \pm 0,03$ mL en un balón de $100,0 \pm 0,1$ mL, hasta llegar a un patrón de $10,0 \pm 0,1$ µg As/L (patrón 1) para verificar/optimizar la intensidad de la señal y un patrón de $1000 \pm 1,3$ µg As/L (patrón 2) para la preparación de las curvas de calibración.

1.2.3 Optimización y validación de la cuantificación

1.2.3.1 Análisis preliminar de los parámetros iniciales

a. Espectrofotómetro AAnalyst 300/MHS 15

La reproducibilidad para el método previamente establecido[44] no permitió una correcta implementación en estudios posteriores. Por este motivo, se estableció un proceso de revalidación cuyo objetivo es evaluar los parámetros iniciales presentados en la Tabla 1-5 para mejorar la estabilidad de la respuesta analítica.

i. Parámetros iniciales

Se emplearon los parámetros fijados en la metodología de cuantificación implementada en el mismo instrumento[44]. Para la evaluación de la respuesta analítica se evaluaron 3 curvas por triplicado preparadas por diferentes analistas y se evaluó la intensidad de la señal y de manera cualitativa la simetría del pico.

Tabla 1-5 parámetros iniciales para la cuantificación de Arsénico por AA-GH.

Parámetro	Valor inicial	Condición
Flujo del gas de arrastre	Equivalente a 4 psi de presión de entrada.	MHS 15 no permite su modificación.
Concentración THB	0,254 M	Sujeto a optimización
Volumen THB	7,00 ml	Sujeto a optimización
Concentración HCl (M)	3,10 M	Sujeto a optimización
Volumen de muestra	10,0 ml	Sujeto a modificación
Tiempo de integración de la señal	14,2 s	Sujeto a modificación
Corrección de línea de fondo	Sin corrección de línea de fondo	Sujeto a modificación
Suavizado de la señal	No se implementó.	Sujeto a modificación

ii. Sondeo de la respuesta analítica

Se estableció un diseño factorial 2^3 para sondear la respuesta analítica (Tabla 1-7), con una ampliación en el rango experimental basada en los parámetros sugeridos por el método EPA 7062 y SM3114A. Como respuesta analítica se empleó la intensidad (\bar{x}) y la dispersión (s) de una señal de $10 \mu\text{g.L}^{-1}$. El diseño se hizo por triplicado utilizando los niveles codificados mostrados en la Tabla 1-6.

Tabla 1-6. Codificación para los niveles de las variables evaluadas.

Variable	Niveles	
	Bajo (-1)	Alto (1)
[] HCl (M)	1,00	3,00
[] THB (M)	0,13	1,05
V THB (ml)	5,00	15,0

Tabla 1-7 Diseño factorial 2^3 para determinar la influencia de la concentración de HCl y THB

Exp	[] HCl	[] THB	Vol THB
1	1	1	1
2	-1	1	1
3	1	1	-1
4	-1	1	-1
5	1	-1	1
6	-1	-1	1
7	1	-1	-1
8	1	-1	-1

Los efectos principales fueron contrastados y discriminados por significancia con una gráfica de Pareto.

iii. Diseño de optimización

Los factores más relevantes obtenidos en el diseño de sondeo se complementaron con puntos centrales para hacer un análisis más completo del comportamiento del modelo. 2^2 para encontrar las condiciones óptimas en la cuantificación de arsénico. Utilizando la matriz de diseño mostrada en la Figura 1-8.

Tabla 1-8 Diseño Factorial con puntos centrales 2^2 para la optimización de la cuantificación de arsénico por generación de hidruros.

Exp	Conc HCl	Vol THB
1,2,5,8,9,10,13,16	0	0
3, 15	1	1
4, 12	-1	1
6,11	-1	-1
7,14	1	-1

Donde 1 es el nivel alto: HCl=3,00 M, THB=10ml; 0 el nivel medio HCl=2,00 M, THB= 10 ml y -1 el nivel bajo HCl = 1,00 M, THB= 5ml.

iv. Influencia del agente pre-reductor en la cuantificación de arsénico

Con el fin de determinar el efecto del yoduro de potasio como agente pre-reductor en la intensidad de la señal en AA-HG, se comparó la señal de 20 patrones de $10 \pm \mu\text{g.L}^{-1}$. La

mitad de estos patrones con una adición de yoduro de potasio hasta una concentración final de ~1 % p/v, y la otra mitad sin adición de KI. Los patrones tuvieron un tiempo de espera previo al análisis de 30 ± 5 min.

b. Espectrofotómetro ContrAA 700/HS 55

Utilizando las condiciones predeterminadas por el fabricante (*Analytik Jena*) se verificó la respuesta de la concentración de chequeo (concentración que registra una área de 0,10) a 3 pixeles en área (0,45 $\mu\text{g/L}$).

1.2.3.2 Parámetros del método

i. Límite de detección y cuantificación

Para el cálculo del límite de detección y cuantificación del método (LDM y LCM respectivamente), se midió la señal de 10 blancos del procedimiento. Posteriormente, siguiendo los lineamientos de la IUPAC y la sociedad de métodos analíticos (ACM) de la real academia[51] de la siguiente manera:

$$\text{LDM} = \bar{x}_B + 3s_B \quad (1-8)$$

$$\text{LCM} = \bar{x}_B + 10s_B \quad (1-9)$$

Donde \bar{x}_B es el valor promedio, s_B es la desviación estándar de los blancos de procedimiento, y, LDM y LCM el límite de detección y cuantificación del método respectivamente.

ii. Curva de calibración

El ajuste del modelo se hizo por mínimos cuadrados para 6 patrones distribuidos de 0 a 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$ por triplicado. El grado de ajuste de los modelos de calibración se evaluó utilizando el coeficiente R^2 , análisis de residuales y ANOVA.

iii. Reproducibilidad y repetibilidad

Para la determinación de la repetibilidad y reproducibilidad del método de cuantificación se midieron 9 patrones de $10,0 \pm 0,01 \mu\text{g.L}^{-1}$ divididos en 3 grupos de 3. Cada grupo fue medido bajo diferentes condiciones de preparación (incluyendo patrones y reactivos), día y operario.

1.2.3.3 Parámetros de calidad

i. Cartas de control

Con los resultados obtenidos en el proceso de optimización se generaron cartas de control para registrar el desempeño del análisis basadas en el método de Shewhart[51]. Se emplearon como parámetros de control la concentración de dos patrones, su desviación estándar y la pendiente del modelo de calibración.

ii. Control de calidad reactivos y patrones de referencia

Todos los reactivos fueron debidamente estandarizados por medio de titulación, con Biftalato de potasio para el hidróxido e hidróxido para el ácido empleado. Para confirmar la concentración de As en el patrón 0, se utilizaron dos patrones independientes: un estándar multielemental *Perkin Elmer* 2 $\mu\text{g.L}^{-1}$ y una solución patrón a esta misma concentración preparada a partir de $\text{Na}_2\text{HASO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ *Merck* al 98,5%. Se estableció una prueba t de diferencia de medias a dos colas con un 95% de confianza y $n=5$.

1.2.4 Optimización y validación de la Extracción

El procedimiento de extracción fue optimizado para 7 patrones de referencia de suelos y sedimentos (MATSD0105, MATSL0105, CRM016050, CRM052050, NIST 1646a, NIST 2709a y NIST 2711a) y los sedimentos activos muestreados a lo largo del río Suratá en el distrito de Vetas-California (Capítulo 1). Para iniciar el proceso de extracción se pesaron $100,0 \pm 5,0$ mg de cada muestra (Su/Se) en un tubo de polipropileno de 2 cm de diámetro, al que se le agrego la solución extractora y se sumergió en el baño ultrasónico por el tiempo pertinente (Según la etapa del estudio). Después de la extracción las muestras fueron filtradas con papel Whatman No. 1. Las muestras fueron almacenadas a $4 \pm 2^\circ\text{C}$ hasta su análisis.

1.2.5 Diseño de experimentos en la extracción y cuantificación de As en Su/Se

La optimización de la extracción de arsénico asistida por ultrasonido fue dividida en dos etapas: La primera de sondeo, usando el diseño de Plackett-Burman, para determinar los factores más significativos, y la segunda de optimización usando el Diseño Central Compuesto, para determinar los valores óptimos de estos factores.

1.2.5.1 Diseño de Sondeo (Plackett-Burman)

El diseño de Plackett-Burman fue realizado por triplicado usando la matriz de diseño para $n=8$ y $k=7$. Se analizó la influencia de las variables en el porcentaje de recuperación (%Rec) y el porcentaje de coeficiente de variación (%CV). Las variables elegidas fueron X1: Cantidad de agua en el baño, X2: Distancia vertical entre el recipiente de extracción y el fondo del baño, X3: Distancia entre el recipiente de extracción y el centro del baño, X4: tiempo de extracción, X5: Solución extractante, X6: volumen del extractante y X7: Número de tubos sumergidos en el baño (Figura 1-3).

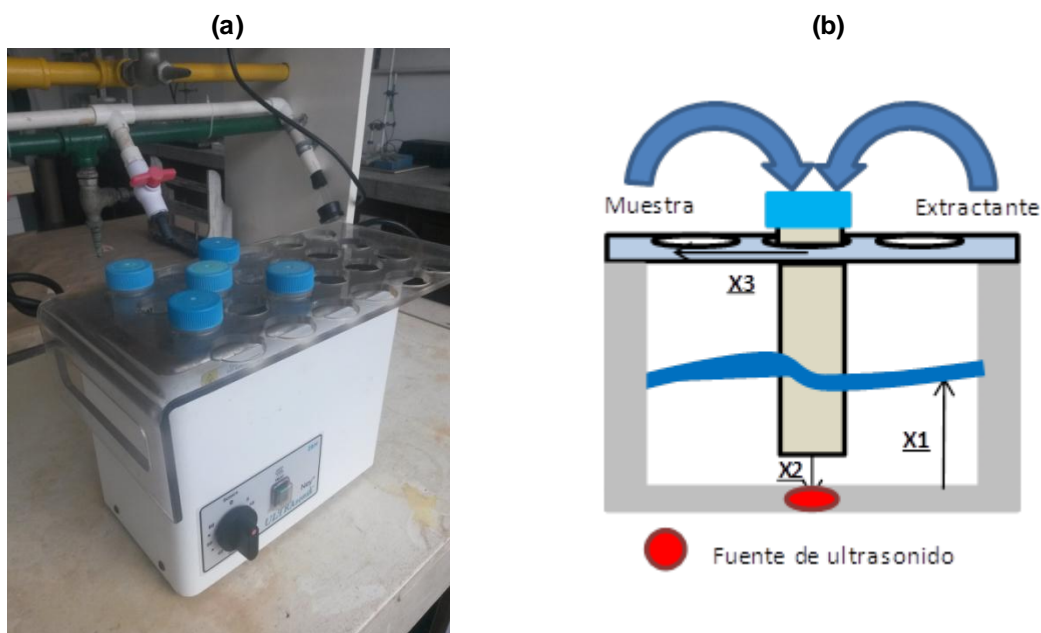


Figura 1-3 a) ultrasonido Neytech Ultrasonik™ 19H, b) esquema de corte lateral.

Tabla 1-9 Codificación para los niveles de las variables evaluadas.

Factor	Level	
	-1	1
X1	6.0 cm	12 cm
X2	2.0 cm	0.10 cm
X3	5.0 cm	0 cm
X4	2.0	30
X5	HNO ₃	Aqua Regia
X6	5.00 ml	10.0 ml
X7	1	4

La matriz de diseño (Tabla 1-10) está constituida por 8 corridas experimentales. Para la determinación de los coeficientes de correlación se realizó el diseño por triplicado, para un

total de 24 experimentos. Cada réplica del diseño fue realizada en días separados con reactivos y patrones independientes hasta el patrón madre (patrón 0).

Tabla 1-10. Matriz de diseño de Plackett-Burman para el sondeo de variables significativas en la extracción de arsénico asistida por ultrasonido.

Exp	X2	X3	X7	X4	X5	X1	X6
1	1	1	1	-1	1	-1	1
2	1	1	-1	1	-1	-1	1
3	1	-1	1	-1	-1	1	-1
4	-1	1	-1	-1	1	1	1
5	1	-1	-1	1	1	1	-1
6	-1	-1	1	1	1	-1	-1
7	-1	1	1	1	-1	1	1
8	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1

A partir de los resultados obtenidos en el diseño de Plackett-Burman, se discriminaron las variables más importantes por significancia usando la gráfica de Pareto.

1.2.5.2 Diseño de Optimización (DCC)

Para el diseño de optimización se emplearon 2 variables elegidas a partir de los resultados encontrados en la fase de sondeo. Con estas variables se realizó un diseño central compuesto de optimización para cada estándar certificado, con el fin de obtener 7 modelos de superficie de respuesta que describan las condiciones óptimas para diferentes composiciones de Su/Se. Los modelos resultantes fueron comparados entre sí, y un valor óptimo medio de todos los modelos fue calculado para la generalización de la metodología.

1.2.5.3 Validación de la metodología de extracción

Usando el valor óptimo medio de los modelos de superficie de respuesta, se realizó la extracción para los 7 sedimentos muestreados a lo largo del río Suratá, y se comparó con el valor obtenido por Análisis de activación neutrónica NAA y extracción asistida por microondas usando una prueba t.

1.2.6 Software y metodologías estadísticas

Todo el análisis estadístico, diseño de experimentos y gráficos fue realizado usando el lenguaje para análisis estadístico R. La interfaz gráfica *Rcmdr*[55] se empleó en la generación de las matrices de diseño, el paquete *rsm*[56] se empleó en la generación de modelos de superficie de respuesta y su análisis estadístico, y el paquete *ggplot2*[57] se empleó en la generación de los gráficos de Pareto, gráficas de efectos principales, superficies de respuesta y gráficos de niveles.

1.3 Resultados y Análisis de Resultados

1.3.1 Proceso de cuantificación

1.3.1.1 Análisis preliminar de los parámetros iniciales

a) Espectrofotómetro AAnalyst 300/MHS-15

Para la evaluación inicial se realizó una serie de medidas empleando la metodología anterior. Una primera mirada a la simetría de los picos generados, mostró al pico descentrado en la ventana de lectura (Se leía aproximadamente un 60% de la señal). Esto implica que el valor del área de pico no estaba siendo registrado en su totalidad. Un aumento en el tiempo de integración (de 12 a 20 s) centro el pico con el consecuente aumento en el área. Sin embargo, cabe mencionar que el método desarrollado empleaba en la cuantificación la altura del pico, por lo que no es necesario registrar la totalidad de la señal, siempre y cuando se registre el máximo de pico. Si bien este resultado no trae una respuesta de la falta de reproducibilidad en la metodología estudiada, permite tener mejores medidas de control sobre la señal analítica.

Adicionalmente se vio un alto índice de ruido, por lo que se decidió utilizar la corrección de línea de fondo con lámpara de deuterio. Sin embargo, esto no mostró una mejora apreciable sobre la calidad de la señal. El uso del método de suavizado de mediana móvil disponible en el programa de control del equipo, permitió disminuir considerablemente el ruido a costo de una disminución insignificante (<5%) de la intensidad de la señal.

La Figura 1-4 muestra los resultados para 3 curvas de calibración para el rango de trabajo reportado[44] para 3 analistas diferentes:

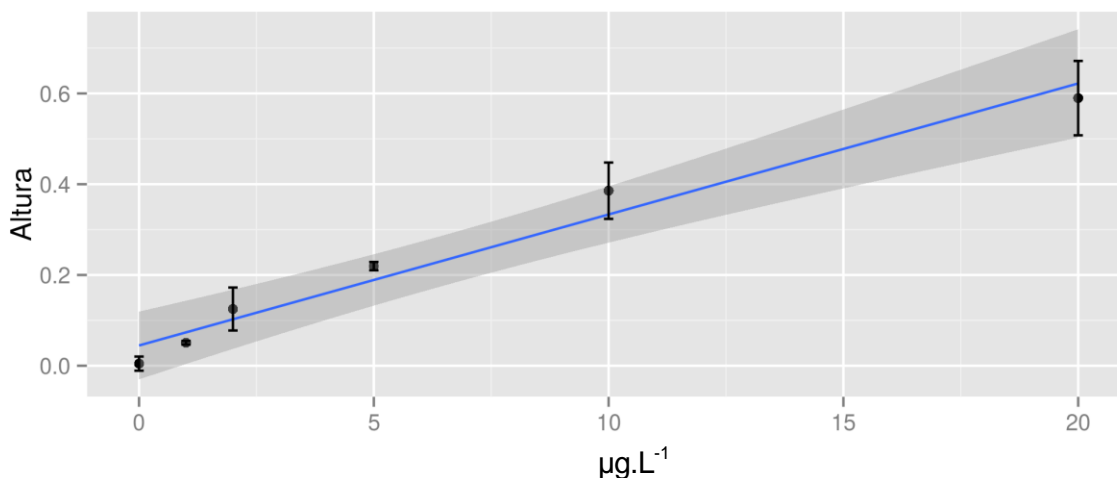


Figura 1-4 Curva de calibración metodología reportada previa a la optimización.

Tabla 1-11 Estadísticas del modelo de regresión lineal para la metodología antes de optimizar.

Coefficientes:				
	Estimado	Error estandar	t-value	Pr(> t)
Intercepto	0,0447	0,0183	2,439	0,0276
Altura	0,0289	0,0019	15,12	1,73E-10
R² ajustado				0,9385
R² Multiple				0,9344
Error residual estandar				0,05617
Valor-p (Prueba F)				1,73E-10

El modelo de regresión mostró un ajuste y una pendiente cercanos al valor reportado $R^2=0,993$ y $m=0,0325$ (Tabla 1-11). Sin embargo, cabe aclarar que la respuesta del presente estudio tiene un factor de variabilidad adicional (analista) que puede estar relacionado con la diferencia entre los resultados obtenidos con la metodología previa.

Aunque los resultados preliminares mostraron una alta correspondencia con la metodología de partida se decidió estudiar el efecto de las variables en la variación de la señal.

i. Sondeo de la respuesta analítica

El resultado del efecto de las variables medidas sobre la respuesta fue analizado a través de las gráficas mostradas en la Figura 1-5. En estas se observa un efecto significativo de la concentración y volumen del THB sobre la intensidad de la señal (área promedio). La gráfica de efectos principales muestra que a mayor volumen de THB (THBvol) o

concentración (THBconc), mayor será el área del pico. La concentración de ácido Clorhídrico (HCl) no fue tan significativa.

Las gráficas de “*half-normal scores*” muestran la significancia estadística de los factores evaluados y la interacción entre sí. Solo los factores significativos (B y C) son marcados en la gráfica.

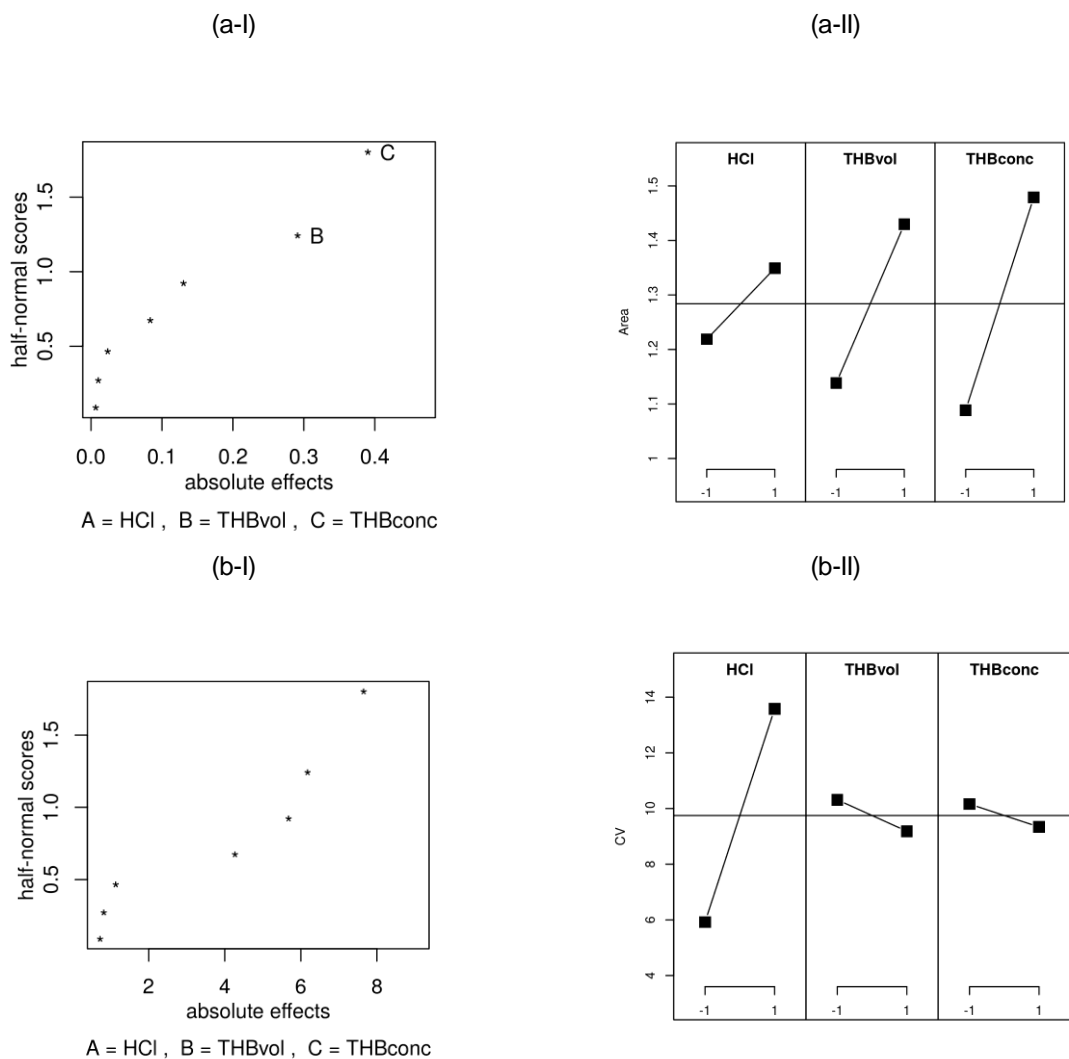


Figura 1-5(I) “*Half normal plot*” y (II) gráfica de efectos principales, para (a) el área promedio con n=9 (intensidad) y (b) el coeficiente de variación del área con n=3 (variabilidad).

Estos resultados, concuerdan con lo esperado, teniendo en cuenta que el área depende de la eficiencia de la reacción del THB con el As. La cual no está dada (significativamente) por la concentración de HCl [33].

Por otro lado, aunque el coeficiente de variación no mostró una dependencia estadísticamente significativa con ninguno de los factores analizados, la concentración de HCl mostró un efecto considerablemente superior al de los factores relacionados con THB. La razón de este comportamiento puede estar ligada a la generación de un creciente exceso de hidrogeno, producto de la hidrólisis ácida del THB, con el aumento en la concentración de ácido en el medio, lo que puede cambiar las condiciones de transporte de la arsina por parte del gas de arrastre[31].

Con los resultados obtenidos, se puede decir que el volumen y la concentración de THB tienen una influencia equivalente, y por lo tanto puede ser utilizada cualquiera de los dos para la optimización. La concentración de HCl mostró no tener un efecto significativo sobre la intensidad de la señal bajo las condiciones del diseño. Sin embargo, la influencia sobre el coeficiente de variación fue mayor que para las variables asociadas al THB, lo que hace de este parámetro un candidato atractivo para el proceso de optimización.

ii. Optimización de la señal

Teniendo en cuenta lo observado en el sondeo de la respuesta analítica, se seleccionó el volumen de THB y la concentración de ácido clorhídrico para la etapa de optimización. A partir del diseño factorial mostrado en la Tabla 1-8 de la sección 2.2.3 se ajustaron dos modelos por mínimos cuadrados para la generación de dos superficies de respuesta: una para la intensidad y otro para la variación de la señal,(Tabla 1-12).

Los modelos planteados siguen la ecuación 1-5.

$$y = A(\beta_0) + B(\beta_1)x_1 + C(\beta_2)x_2 + D(\beta_{12})x_1x_2 + E(\beta_{11})x_1^2 + F(\beta_{22})x_2^2 \quad (1-10)$$

Donde x_1 es la concentración de HCl, x_2 la cantidad de THB, las letras A-F son los coeficientes del modelo.

Tabla 1-12 Modelos encontrados para la intensidad y dispersión en la señal, utilizando el diseño experimental de la tabla 2-8.

Factor	A(β_0)	B(β_1)	C(β_2)	D(β_{12})	E(β_{11})	F(β_{22})
Intensidad (a)	0,0516	0,00552	0,0235	0,0065	-0,00294	-0,00619
Dispersión (b)	0,198	0,0154	0,00018	-0,040	0,0338	-0,0238

El punto donde la función y_a correspondiente al modelo que muestra el comportamiento de la intensidad sea máximo y la función y_b correspondiente al modelo que muestra el comportamiento de la dispersión sea mínimo, será considerado como el punto óptimo. Para poder estimar las condiciones óptimas con estas restricciones se empleó la siguiente función:

$$\varphi = \left(y_a + \frac{1}{y_b} \right) \left(1 - \frac{(x_1^2 + x_2^2)}{k^2} \right) \quad (1-11)$$

Donde φ es una nueva función cuyo máximo local corresponde al punto óptimo (máxima intensidad y mínima varianza) dentro del rango normalizado definido entre (-k, k). Esta modificación es necesaria debido al carácter creciente del modelo de intensidad y_a , de no usar esta restricción se convergería a un máximo fuera del rango experimental.

Para encontrar el valor óptimo con los modelos encontrados se empleó el método simplex para la función φ con los siguientes puntos iniciales:

Conc HCl (1) = -0.665; Volumen NaBH₄ (1) = 0.655;

Conc HCl (2) = -0.655; Volumen NaBH₄ (2) = 0.665;

Conc HCl (3) = -0.645; Volumen NaBH₄ (3) = 0.645;

Después de 103 iteraciones se encontraron las condiciones óptimas: 9,05 ml de NaBH₄ y concentración 2 M de HCl, como muestra la Figura 1-2:

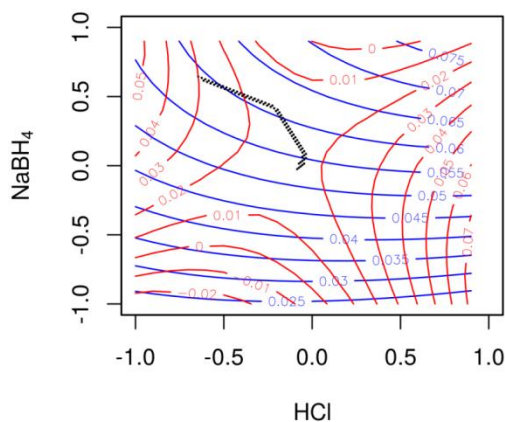


Figura 1-6 Determinación de condiciones óptimas para la cuantificación de arsénico utilizando la función φ . Los círculos negros muestran todas las iteraciones hasta converger a las condiciones óptimas (9,05 mL de NaBH₄ y concentración 2 M de HCl). En azul se muestra la función de la intensidad en la señal y en rojo la función de dispersión.

Se observa que mientras la intensidad es una función creciente en el rango experimental, la dispersión muestra un mínimo a la mitad de este rango. Esto se debe a la dependencia de la simetría de la señal con el flujo de la arsina y el hidrogeno[18].

iii. Efecto del agente pre-reductor

Los parámetros estadísticos con y sin yoduro de potasio para las 10 determinaciones efectuadas es mostrado en la Tabla 1-13.

Tabla 1-13 Comparación del área con y sin agente reductor (KI).

Parámetros estadísticos	Con KI	Sin KI
Número de muestras (n)	10	10
Promedio del área (\bar{x})	1,611	1,626
Desviación estándar del área (s)	0,112	0,078
Coficiente de variación (CV)	6,95%	7,70%
Valor-p prueba F a un 95% de confianza	0,297	
Valor-p prueba t asumiendo varianzas iguales a un 95% de confianza	0.729	

A partir de los valores-p hallados en las pruebas de contraste t-student para diferencia entre medias, y F para diferencia entre varianzas (Tabla 1-13) no hay evidencia experimental de un cambio en la señal con el uso de yoduro de potasio. Si bien en el método descrito por la SM 3114B se afirma que este puede ser el caso para algunos instrumentos, estas pruebas proveen el sustento experimental para no usar la etapa de pre-reducción en la cuantificación de arsénico usando el área de pico como señal bajo las condiciones del AAnalyst 300/MHS-15.

b) Espectrofotómetro ContrAA 700/HS-55

i. Comprobación de la concentración característica de chequeo

La concentración característica de chequeo (concentración a la cual se obtiene una señal de 0,100), para el arsénico con 3 pixeles de resolución y usando el área como señal a cuantificar, corresponde a 0,45 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

Tabla 1-14 Prueba t para la verificación de la concentración característica de chequeo reportada por el proveedor, asumiendo varianzas iguales.

\bar{x}_B (n=10)	0,133
\hat{s}_B (n=10)	0,075
μ	0,100
Intervalo de confianza (95%)	0,079-0,186
Valor p (prueba t con dos colas)	0,202

Se rechaza la hipótesis nula. La concentración característica de chequeo verificada en promedio cumple con las especificaciones técnicas hechas por el fabricante (Tabla 1-14).

1.3.1.2 Parámetros del método

a) Espectrofotómetro AAnalyst 300/MHS-15

i. Rango lineal

Se determinó como criterio de linealidad la concentración a la cual se tiene un coeficiente de correlación lineal superior a 0,99 y un error residual estándar inferior a 20%. Estos parámetros fueron calculados para una curva de calibración producto del promedio de tres medidas tomadas durante un mismo día, para evitar que variaciones diferentes a la respuesta analítica afectaran la cuantificación. La respuesta mostro ser lineal hasta aproximadamente 20 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Lo que concuerda con lo planteado en la metodología previamente implementada[44].

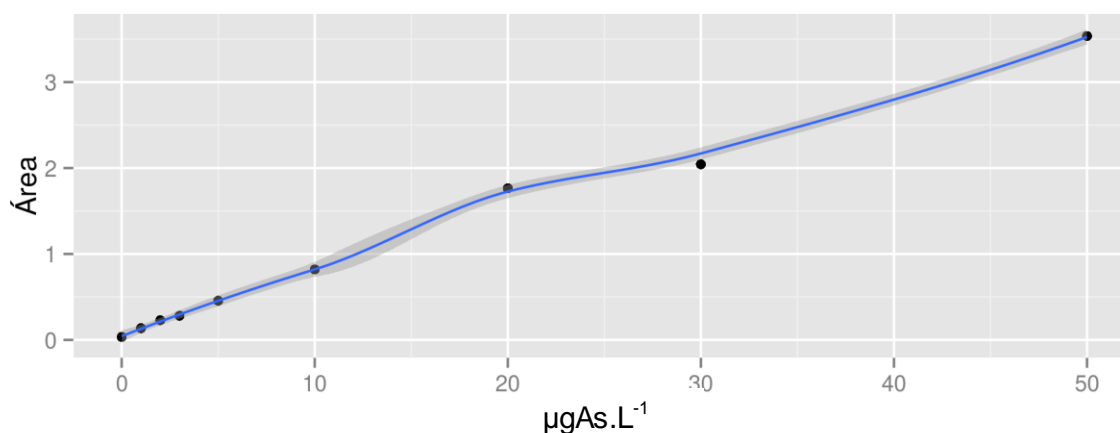


Figura 1-7 Gráfico de Área en función de la concentración para arsénico, para evaluar el rango lineal (AAnalyst 300/MHS-15).

ii. Curvas de calibración

La curva de calibración (Figura 1-8) es un compilado de 19 corridas ejecutadas desde el principio del estudio (11-2014 a 11-2015). En ella, se muestra la alta variación que tiene la respuesta analítica cuando se aumenta la cantidad de variables, en este caso: analista, día, reactivos, entre otros. Como se puede ver, la variación a lo largo de la curva depende del nivel de la calibración.

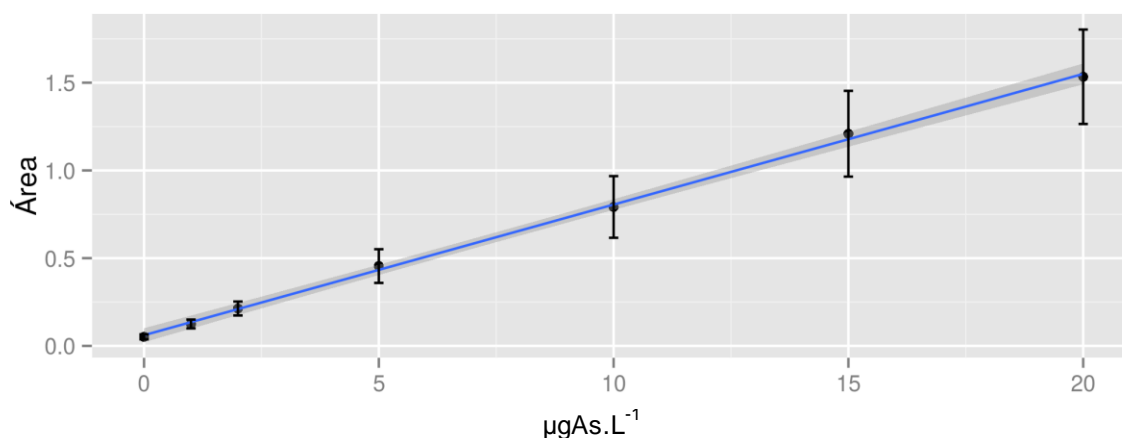


Figura 1-8. Curva de calibración promedio (n=19) para la determinación de As con rango de varianza para cada nivel en la calibración (AAnalyst 300/MHS-15).

Tabla 1-15. Tabla de ANOVA para la curva de calibración de arsénico (AAnalyst 300/MHS-15).

Coeficientes:				
	Estimado	Error estándar	t-value	Pr(> t)
Intercepto	0,0610	0,0201	3,03	0,0030
Área	0,0744	0,00203	36,6	<2E-16
R ² ajustado				0,927
R ² Múltiple				0,928
Error residual estándar				0,147
Valor-p (Prueba F)				<2,2E-16

Como se observa en la tabla de ANOVA (Tabla 2-15), la pendiente mostró ser significativamente diferente de 0, aunque es muy similar al valor de intersección. Esto se debe al gran número de grados de libertad empleados en este estudio. Aunque el ajuste R² no es tan alto, la descripción de la metodología analítica, permite que sea reproducida bajo cambios drásticos en las condiciones de operación.

iii. Límite de detección y cuantificación (LDM, LCM)

El límite de detección y cuantificación fue determinado con las ecuaciones 1-8 y 1-9 respectivamente. Los resultados son mostrados en la Tabla 1-16

Tabla 1-16 Límite de detección y cuantificación (AAAnalyst 300/MHS-15).

\bar{x}_B (n=10)	0,0855
\hat{s}_B (n=10)	0,0125
LDM	0,123 $\mu\text{g.L}^{-1}$
LCM	0,210 $\mu\text{g.L}^{-1}$

b) Espectrofotómetro ContrAA 700/HS-55

i. Rango lineal

La respuesta mostró ser lineal hasta aproximadamente 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (Figura 1-9). El criterio de linealidad empleado fue el mismo al del equipo AAAnalyst.

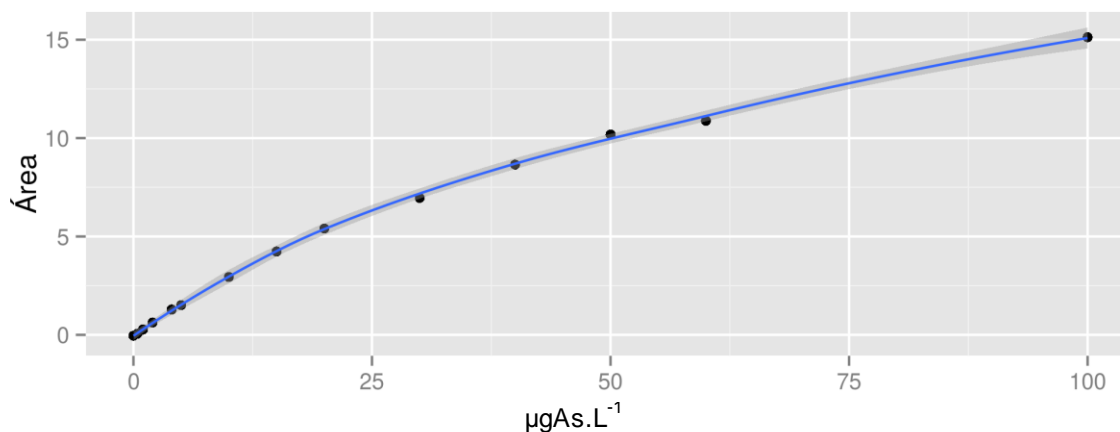


Figura 1-9. Curva de calibración promedio para la determinación de As con rango de varianza para cada nivel en la calibración ContrAA 700/HS-55.

ii. Curvas de calibración

La curva de calibración obtenida para el ContrAA mostró ser mucho más reproducible que la encontrada para el AAAnalyst, esto se atribuye al método de adición del THB. Para el AAAnalyst el THB es introducido a la celda de reacción a través de un mecanismo accionado manualmente por el operario. Esto implica que la cantidad de THB adicionada puede estar sujeta a errores aleatorios. Por el contrario el ContrAA emplea un mecanismo de bomba peristáltica activado desde el software.

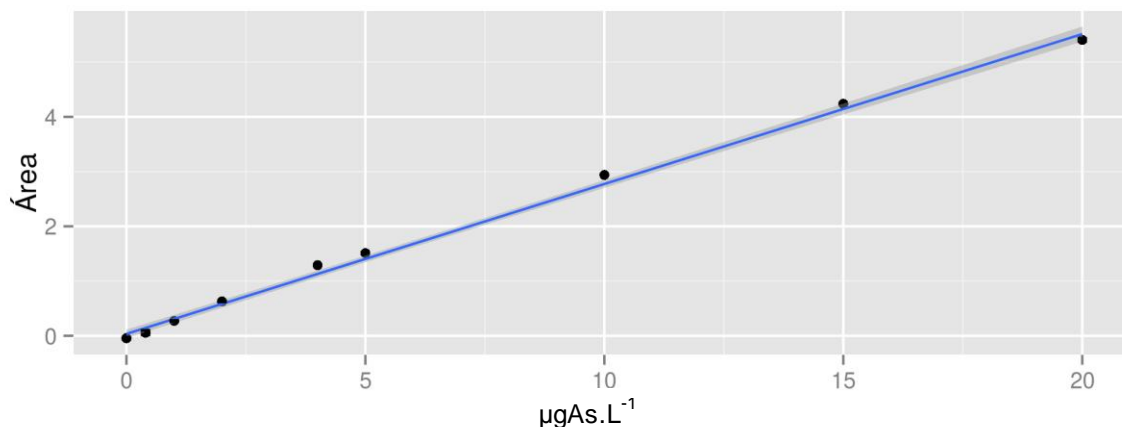


Figura 1-10 Curva de calibración promedio para la determinación de As con rango de varianza para cada nivel en la calibración ContrAA 700/HS-55.

Tabla 1-17 Tabla de ANOVA para la curva de calibración de arsénico ContrAA 700/HS-55.

Coefficientes:				
	Estimado	Error estándar	t-value	Pr(> t)
Intercepto	0,03439	0,0362	0,949	0,361
Área	0,2739	0,00395	69,3	<2E-16
R² ajustado				0,9975
R² Múltiple				0,9973
Error residual estándar				0,1054
Valor-p (Prueba F)				<2,2E-16

La mayor intensidad de la señal para el ContrAA permitió una mayor distinción entre el intercepto y el área (Tabla 1-17), lo que implica un mejor desempeño del modelo en la predicción de concentraciones bajas. Además el grado de ajuste fue considerablemente mayor. Sin embargo, cabe aclarar que el número de curvas analizadas para el contrAA ($n=3$), y el periodo de análisis empleado de aproximadamente un mes.

iii. Límite de detección y cuantificación (LDM, LCM)

El límite de cuantificación y detección se determinaron según la ecuación 1-8 y 1-9 respectivamente. Los resultados son mostrados en la Tabla 1-18

Tabla 1-18 Límite de detección y cuantificación (AAnalyst 300/MHS-15).

\bar{x}_B (n=10)	0,00253
\hat{s}_B (n=10)	0,00052
LDM	0,053 $\mu\text{g.L}^{-1}$
LCM	0,220 $\mu\text{g.L}^{-1}$

c) Parámetros de calidad

i. Carta de control

Durante todo el estudio (11-2014 a 11-2015) se generó una carta de control utilizando el suelo certificado CRM 052-050 (**Error! Reference source not found.**). Para esto se emplearon las condiciones de extracción óptima encontradas con el diseño central compuesto.

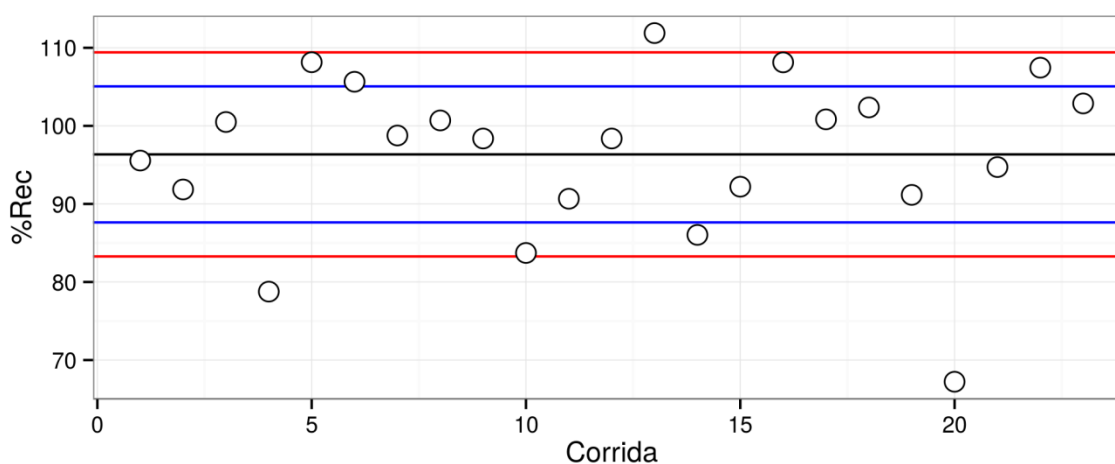


Figura 1-11 Carta de control para el proceso de cuantificación de arsénico por generación de hidruros. Donde la línea central corresponde al promedio de las muestras, las líneas azules son los límites de alerta ($\bar{x} \pm 2s$), y las líneas rojas los límites de acción ($\bar{x} \pm 3s$).

A partir de los resultados obtenidos se puede decir que la metodología de cuantificación en Su/Se durante los ensayos del estudio, estuvo bajo control con la excepción de las corridas 4 y 13, durante las cuales se tomaron las medidas correctivas necesarias (cambio de la solución de THB y limpieza de una celda de reacción contaminada).

ii. Interlaboratorios

En el estudio de interlaboratorios participó el laboratorio de análisis de suelos del Instituto Mineralógico Colombiano. Para esto, se midió el CRM 052-050 patrón de suelo certificado.

Tabla 1-19. Ensayo interlaboratorios para la verificación de la metodología de cuantificación de arsénico.

Laboratorio	% Rec
Departamento de química Universidad Nacional (Este estudio)	93,6±8,2
Instituto Mineralógico Colombiano	98,0
Valor p (prueba t 95% con n=6)	0,447

Como se puede ver en la Tabla 1-19 No se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre los resultados obtenidos por ambas metodologías.

1.3.2 Proceso de extracción

1.3.2.1 Diseño de sondeo (Placket-Burman)

En la gráfica de Pareto (Figura 1-12) se observa que hay un efecto estadísticamente significativo (magnitud del efecto superior a 6) de la concentración de la solución extractante. Dentro del rango experimental analizado, El efecto del número de tubos en el baño y la distancia horizontal del tubo a la fuente ultrasonido(X7 y X3), mostró ser insignificante. Contrario a lo observado en otros estudios [4, 27], la posición tubo del no tuvo un efecto significativo en el rendimiento de la extracción.

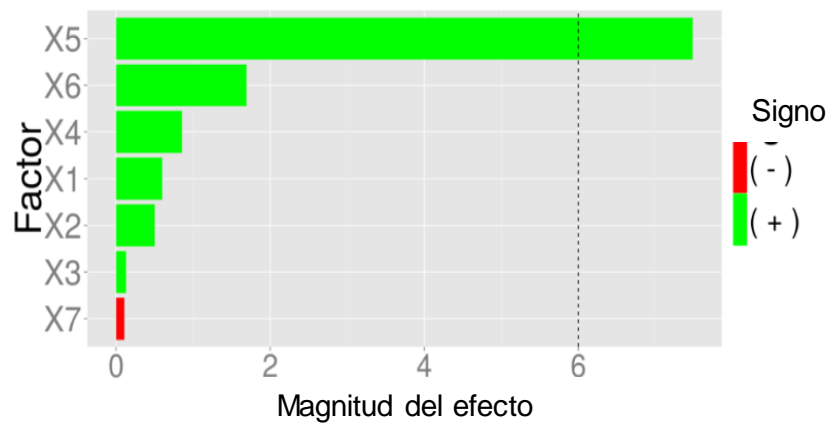


Figura 1-12 Gráfica de Pareto para la extracción de arsénico usando como respuesta el coeficiente de variación.

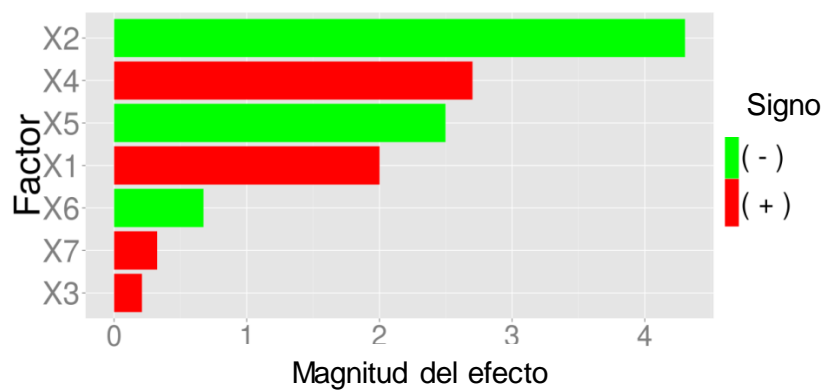


Figura 1-13 Gráfica de Pareto para la extracción de arsénico usando como respuesta el porcentaje de recuperación.

Por otro lado la gráfica de Pareto para el coeficiente de variación (Figura 1-13), no mostró un efecto estadísticamente significativo de ninguna de las variables analizadas en el rango experimental analizado. Sin embargo, dentro de los valores obtenidos, la distancia vertical del tubo a la fuente de ultrasonido fue el que mostró una mayor influencia en la variación de la recuperación de la extracción seguido por el tiempo. De manera similar a lo observado en el porcentaje de recuperación, la posición horizontal del tubo y la cantidad de tubos en el baño ultrasónico fueron los factores que menos afectaron el coeficiente de variación.

1.3.2.2 Diseño de optimización y superficies de respuesta

Para el desarrollo de los diseños de optimización DCC, se fijó la posición del recipiente, la cantidad de tubos a 1, y la altura del agua en el baño. Las variables optimizadas fueron concentración del extractante (HNO_3) y el tiempo de extracción (t). Con el fin de evaluar un rango experimental lo suficientemente amplio tanto para el tiempo y concentración de ácido clorhídrico, se empleó una transformación logarítmica de ambas variables, y se empleó el DCC para las variables en su transformación logarítmica (Tabla 2-20).

Tabla 1-20 Niveles empleados en el diseño central compuesto DCC y su transformación logarítmica.

Factor transformado	Niveles transformados				
	-1.41	-1	0	1	1.41
Log(X4)	0.140	0.693	2.04	3.40	3.95
Log(X5)	-4.16	-3,21	-0.91	1.39	2.33
Factor	Niveles				
X4 (min)	1.2	2.0	7.7	30.0	52.2
X5 (M)	0.016	0.040	0.40	4.0	10.3

A continuación se muestra los resultados de los modelos de superficie de respuesta obtenidos para cada patrón certificado, las condiciones óptimas de extracción, el máximo de recuperación calculado por el modelo y el coeficiente de ajuste.

Tabla 1-21 Resultados obtenidos para los modelos de extracción por DCC.

MCR	Muestra	Max %R	HNO_3 (M)	t (min)	R^2
MATSD0105	Sedimento	95	4,02	7,73	0,976
MATSL0105	Suelo	99	0,12	2,02	0,869
CRM016050	Sedimento	94	4,10	6,20	0,950
CRM052050	Suelo	99	2,58	2,15	0,884
NIST1646a	Sedimento	96	10,10	2,02	0,905
NIST2709a	Suelo	101	1,22	2,35	0,934

NIST2711a	Suelo	88	0,12	2,68	0,790
-----------	-------	----	------	------	-------

Los modelos encontrados emplean una concentración diluida de HNO_3 (0,12 a 10,1 M) y tiempos de extracción reducidos (2,02 a 7,73 min). En promedio, los modelos encontrados para los sedimentos analizados mostraron un tiempo de extracción óptimo dos veces mayor que en el caso de los suelos. Esto sugiere que las dos matrices tienen un comportamiento general ligado a su naturaleza, que puede ser diferenciado durante la UAE. Este hecho fue evidenciado en estudios previos donde el comportamiento de las variables involucradas en el método de extracción dependió del tipo de matriz estudiada.

Las concentraciones diluidas de ácido en el proceso de extracción es una de las características de EAU[12], sin embargo, debido a que la influencia de la concentración de ácido en el porcentaje de recuperación no se reduce significativamente a niveles altos, es común el uso de soluciones extractantes equivalentes a las empleadas en metodologías húmedas tradicionales ($\text{HNO}_3:\text{HCl}$, 1:3)[4, 44]. Todos los Su/Se utilizados mostraron un valor mínimo en la recuperación para concentraciones bajas de extractante y tiempos cortos.

Un hecho interesante, fue la marcada influencia del tiempo sobre el porcentaje de extracción en suelos analizados (MATSL0105, CRM052050, NIST 2709a, NIST 2711a) Mostrando que tiempos de extracción largos disminuyen la eficiencia de la EAU. Esta reducción en la extracción se ha visto en otras matrices[22], y ha sido ligado a una reabsorción de arsénico inducida por una disminución en el tamaño de partícula por parte de las cavitaciones. Sin embargo, una caracterización del fenómeno responsable de esta disminución requiere estudios adicionales.

1.3.2.3 Validación determinación de arsénico

Para validar los resultados obtenidos tanto por la metodología de extracción asistida por ultrasonido (EAU) como por absorción atómica con generación de hidruros (AA-GH) se emplearon 7 muestras de sedimento activo del río Suratá y se tomó como concentración de referencia la determinada por el método normalizado de análisis de activación neutrónica (NAA)[44].

Tabla 1-22 Prueba t para el valor real y el valor obtenido por la técnica de extracción optimizada en el actual estudio.

Muestra	Valor (NAA)	Valor Obtenido (n=3) Este estudio	Valor-p (prueba t 95%)
2	51,9	49.0±6.2	0.505
3	28,1	27,0±3,3	0.627
7	1,1	0.81±1,6	0.790
8	8,2	7,5±2.4	0,657
9	2,8	1,9±1,6	0,447
10	0,6	0,8±1,3	0,842
11	0,8	0,3±0,8	0,419

Como se puede observar en la tabla 2-21, los resultados obtenidos por la metodología optimizada en este trabajo (EAU-AAGH) y el método normalizado de análisis de activación neutrónica en el Reactor Nuclear RA-6 del Centro Atómico Bariloche[44] son estadísticamente equivalentes, lo que valida el método de extracción para este tipo de muestras.

1.4 Conclusiones

- I. La cuantificación de arsénico por absorción atómica con generación de hidruros mostró ser un proceso heterosedástico en el intervalo estudiado, aumentando la varianza en la señal con la concentración de arsénico.
- II. El diseño de sondeo de Plackett-Burman permitió un rápido sondeo de la influencia de parámetros que normalmente no son tenidos en cuenta durante el proceso de extracción, como la posición del recipiente de extracción, número de tubos y cantidad de agua en el baño ultrasónico. Los parámetros que tuvieron mayor efecto fueron la concentración y el volumen de extractante empleado y el tiempo de extracción.
- III. Se observó una posible relación entre el tiempo de extracción y el tipo de muestra analizada frente a la EAU esto puede utilizarse en estudios posteriores para la elección de mejores modelos de extracción ajustados a las necesidades del análisis.
- IV. Se emplearon superficies de respuesta en la determinación de las condiciones óptimas de extracción, encontrando modelos con ajustes R^2 de 0,95.
- V. Se optimizó un método de cuantificación, con tiempo de extracción y concentración del extractante a niveles tan bajos como 2 min y 0,12 M respectivamente. Valores bajos en comparación con métodos normalizados como el EPA 3050B.

2. Caracterización de Arsénico en suelos y sedimentos: Análisis multivariado

2. Caracterización de Arsénico en suelos y sedimentos: Análisis multivariado ...	65
2.1 Marco Teórico.....	66
2.1.1 Especies de As en Su/Se.....	67
2.1.2 Reacciones de desorción.....	70
2.1.3 Impacto ambiental	71
2.1.4 Indicadores de contaminación	74
2.1.5 Análisis estadístico de As en Su/Se	75
2.2 Procedimiento Experimental.....	80
2.2.1 Zona de estudio	80
2.2.2 Muestreo.....	80
2.2.3 Parámetros Analíticos	82
2.2.4 Análisis estadístico.....	83
2.3 Resultados y Análisis de Resultados	84
2.3.1 Índices de contaminación (I_{geo} , FE).....	88
2.3.2 Análisis de correlaciones (AC).....	89
2.3.3 Análisis por componentes principales (ACP).....	95
2.4 Conclusiones.....	101

Para entender el impacto potencial del arsénico en el medio ambiente, es necesario conocer las formas en las que este metaloide interactúa químicamente con las matrices de interés. En este capítulo se va a hacer una exposición de la química del arsénico en suelos y sedimentos mediante la evaluación de los factores más significativos que afectan su adsorción-desorción en suelos y sedimentos (Su/Se) y la identificación de sus fuentes potenciales de contaminación. Para poder reconocer esta información en un caso real, se va a emplear el análisis estadístico multivariado, en los resultados de un estudio efectuado en la zona minera de Vetas-California cercana al páramo de Santurbán (Santander, Colombia) [58].

2.1 Marco Teórico

El arsénico es un metaloide del grupo 15, se encuentra en la corteza terrestre con una concentración promedio de $2\text{-}3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, aunque su concentración es variable y depende del tipo de roca parental. Se ha estimado que de todas las reservas naturales de arsénico (roca, océanos, suelos, biota y atmosfera), más del 99% se encuentra asociado con rocas y minerales[52]. Su estado de oxidación varía entre As(V), As(III) y As(0), principalmente en la forma de compuestos inorgánicos[59]. En fase acuosa, se encuentra principalmente en forma de arsenato (AsO_4^{3-}) o arsenito (AsO_3^{3-}) con diferentes grados de protonación, dependiendo de las condiciones redox y el pH del medio Figura 2-1.

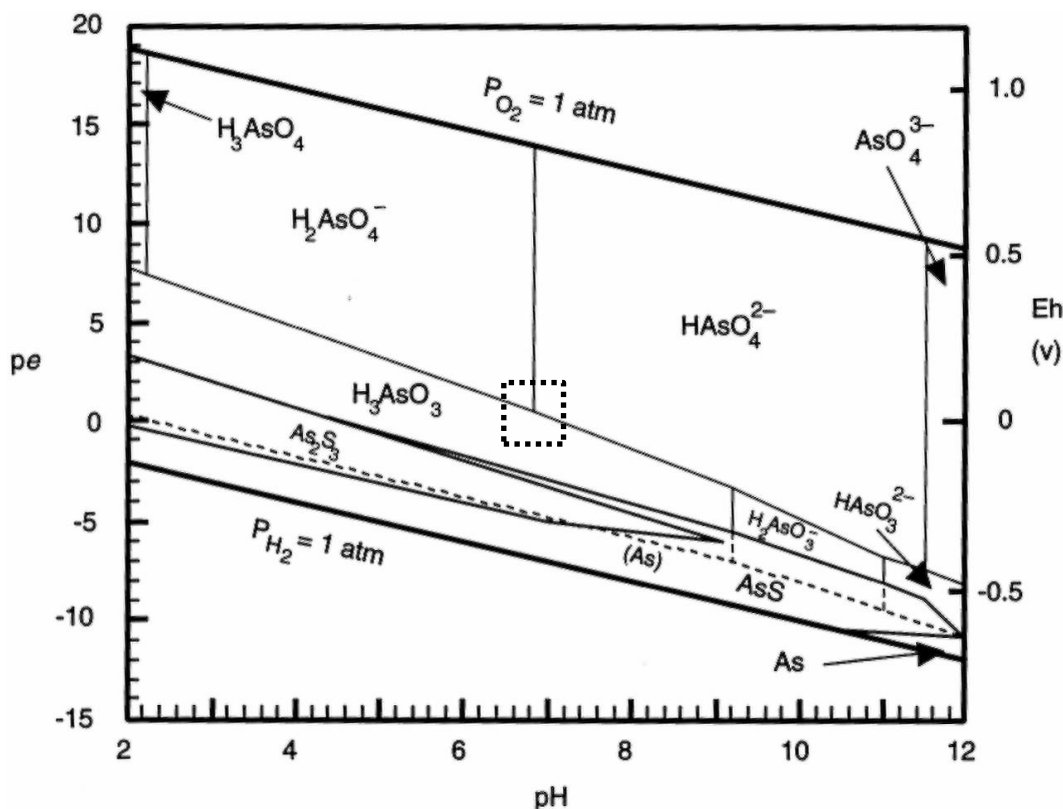


Figura 2-1. Diagrama de Pourbaix para arsénico. El recuadro punteado muestra el rango de pH y potencial redox más común en fuentes hídricas naturales.

El arsénico inorgánico, además de ser la especie más abundante en la naturaleza, es considerada como la más tóxica[60]. Una exposición prolongada a concentraciones tan bajas como $50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de arsenito, ha sido relacionada con cáncer de vejiga, pulmón y piel, así como con diversas patologías cutáneas, renales, hepáticas, neurológicas y

sanguíneas[60-63]. En respuesta a ello, organismos de control ambiental han estipulado un máximo nivel de contaminación (MCL por sus siglas en inglés) de $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ en agua potable[60, 64, 65]. A pesar de estas regulaciones y de los esfuerzos por mitigar el impacto de su ingesta, se estima que 130 millones de personas son expuestas a concentraciones superiores a $50 \mu\text{g.L}^{-1}$ de arsénico, principalmente a través del consumo de agua contaminada[5].

La alta concentración de arsénico en las zonas más afectadas, ha sido ligado principalmente a procesos Naturales (actividad geotérmica)[66]. Sin embargo, no son los únicos factores de riesgo. Actividades económicas propias del desarrollo humano como la minería, la metalurgia y la agricultura, también han aumentado la concentración de arsénico en fuentes hídricas de manera apreciable[7, 59, 61, 67].

Para establecer las causas y posibles fuentes de contaminación de arsénico en cuerpos hídricos, resulta indispensable conocer la forma en como este metaloide interactúa con otros factores ambientales. En especial, con los componentes del Su/Se que tienen un rol central en su regulación[28].

Una descripción general de la química del arsénico con los componentes del Su/Se es prácticamente imposible dada la complejidad y diversidad de este tipo de matrices. A pesar de las dificultades, hay un número significativo de estudios sobre arsénico en fase sólida y los procesos de desorción/disolución en Su/Se, que han permitido hacer predicciones y alcanzar un mejor entendimiento del comportamiento de arsénico en matrices ambientales [36, 37, 41, 61].

2.1.1 Especies de As en Su/Se

El arsénico en fase sólida se puede encontrar en 4 formas: Minerales estequiométricos, complejos adsorbidos, soluciones sólidas y coprecipitados.[28, 36, 52, 68]:

2.1.1.1 Minerales estequiométricos.

Son todos los elementos que en su estructura química incluyen al arsénico en redes repetidas y regulares. Consisten generalmente en depósitos, rocas ígneas y rocas metamórficas características de yacimientos hidrotermales y mineros[68]. Dentro de los

más comunes están la arsenopirita (FeAsS), el orpimento (As₂S₃), Realgar (As₄S₄), entre otros sulfuros.

2.1.1.2 Arsénico adsorbido

En la Tabla 2-1, se observa la máxima retención para los principales minerales adsorbentes de arsénico en Su/Se.

Tabla 2-1. Capacidad máxima de retención de arsénico (III) y (V) en diferentes minerales[36]

Absorbente	As(V) mmol.kg ⁻¹	pH	As(III) mmol.kg ⁻¹	pH
<i>Óxidos de - Al</i>				
Gibbsita: $\gamma\text{-Al(OH)}_3$	35	4,0	-	-
Oxido de aluminio: Al_2O_3 amorfo	1200	7,0	-	-
Alúmina activa: Al_2O_3 poroso	67	6-7	14	6,5-8,5
Bauxita: $\text{AlO}_x(\text{OH})_{3-2x}$	52	6,7	16	6,5-8,5
<i>Aluminosilicatos</i>				
Montmorillonita: $(\text{Na,Ca})_{0,3}(\text{Al,Mg})_2\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$	8,0	5,0	3	5,0
Caolinita: $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$	7,0	5,0	1	5,0
<i>Oxi-hidróxidos de hierro</i>				
Oxido de hierro hidratado: $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$	3514	4,0	2675	8,0
Goethita: $\alpha\text{-FeO(OH)}$	173	4,0	173	8,0
Magnetita: Fe_3O_4	-	-	332	8,0
Ferrihidrita-2-lina: $(\text{Fe}^{3+})_{4-5}(\text{OH,O})_{12}$	1500-2000	9,2	≥ 6000	9,2
Ferrihidrita-2-lina en arena	483	7,1	1206	7,1
<i>Otros</i>				
Birnessita: $(\text{Na,Ca,K})_{0,6}(\text{Mn}^{4+},\text{Mn}^{3+})_2\text{O}_4 \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$	100	-	-	-
Pirolusita: MnO_2	10	6,5	-	-
Criptomelano: $\text{K}(\text{Mn}^{4+},\text{Mn}^{2+})_8\text{O}_{16}$	25	6,5	-	-
Calcita: CaCO_3	ND	-	ND	-
Carbón activado	10	3-4	-	-
Ácidos Húmicos	90-110	5,5	-	5,5

El proceso de adsorción implica la formación de complejos de coordinación de esfera interna (quimisorción) o de esfera externa (fisorción). Las interacciones de los primeros son más intensas que las de los últimos. Dentro de los complejos de esfera interna, Los complejos bidentados-binucleares¹ son los principales responsables de la retención de arsénico en Su/Se[37, 69-71], aunque complejos monodentados² y de esfera externa, también hacen parte de las formas de asociación As con Su/Se[72].

El mecanismo de formación de complejos de esfera interna requiere especies de arsénico parcialmente protonadas, que provean una carga electrostática neta para la interacción con núcleos disponibles en la matriz del suelo[28]. Por este motivo el estado de oxidación juega un papel fundamental en la retención del arsénico en Su/Se. En el diagrama de Pourbaix (Figura 2-1) se puede observar que el As(V) a condiciones naturales va a estar en forma aniónica parcialmente protonada ($H_2AsO_4^-$, $HAsO_4^{2-}$), mientras que el As(III) va a estar completamente protonado (H_3AsO_3). Esto implica que bajo estas condiciones, la interacción electrostática con los minerales va a ser más intensa para el As(V) que para el As(III), lo que eventualmente va a generar una mayor cantidad de complejos de esfera interna para el arsenato, y explica las diferencias evidenciadas en la Tabla 2-1. Consecuentemente, el aumento en la adsorción de arsenito a pH altos concuerda con una mayor afinidad electrostática producto de la aparición de especies desprotonadas de este anión.

2.1.1.3 Coprecipitados

Además de complejos superficiales, el arsenato de manera análoga al fosfato, forma precipitados insolubles con cationes multivalentes Al^{+3} y Fe^{+3} (a pH ácido), Ca^{+2} y Mg^{+2} (a pH alcalino)[36], y debido al tamaño y carga neta del arsenato se favorece la sustitución en precipitados de sulfatos como jarosita $((K,Na,NH_4,H_3O)Fe_3(SO_4)_2(OH)_6)$ [68] y la coprecipitación en presencia de Fe(III) para formar oxihidroxidos de hierro como scorodita ($FeAsO_4 \cdot H_2O$). El arsenito, por otro lado, tiene una mayor tendencia a sufrir desplazamiento de ligantes e incorporación a redes sulfhídricas[36]. Debido a esto, la

¹ Enlazado a dos átomos (núcleos) del adsorbente.

² Enlazado a un átomo (núcleos) de la adsorbente.

solubilidad del As(III) está a menudo controlada por minerales estequiométricos y arsenicosos y solo se da bajo condiciones altamente anóxicas.

2.1.1.4 Soluciones sólidas o minerales arsenicosos

Son los minerales que en su composición estequiometrica no tienen arsénico pero que naturalmente están enriquecidos por este elemento. Al igual que los estequiometricos, se encuentran en yacimientos hidrotermales y mineros. Dentro de los más importantes están el Calcocita (Cu_2S), Calcopirita (CuFeS_2), Galena (PbS), Pirita (FeS_2), Sphalerita (ZnSFe), Stibnita (Sb_2S_3) y Molibdenita (MoS_2).

2.1.2 Reacciones de desorción

Si bien es importante conocer las diferentes formas del arsénico en fase sólida, los mecanismos de desorción nos indican bajo qué condiciones ocurre la movilización a la fase acuosa, y eventualmente dan cuenta de su llegada a aguas superficiales y subterráneas. Dentro de los principales factores de desorción están el desplazamiento iónico, disolución alcalina, la reducción de As(V) a As(III) y disoluciones reductivas de oxi-hidróxidos de hierro[36].

2.1.2.1 Desplazamiento iónico

El desplazamiento iónico competitivo por fosfato, puede ser un factor importante en la desorción de arsenato, especialmente en regiones donde hay escorrentía o lixiviación de pesticidas y fertilizantes. Adicionalmente, silicatos disueltos, materia orgánica y carbonatos, también pueden competir por sitios de adsorción en los minerales del suelo, y promover su desorción[36]. Otros aniones como Cl^- , SO_4^{2-} , y NO_3^- , tienen un impacto directo mínimo, sin embargo, en altas concentraciones aumentan la fuerza iónica lo que puede afectar la estabilidad de los complejos formados en especial los de esfera interna[68].

2.1.2.2 Disolución Alcalina

La desorción por disolución alcalina es ocasionada por la reacción del ión hidroxilo con los componentes de Su/Se, en especial óxidos de aluminio[52]. Los cambios estructurales ocasionados por el aumento de pH, reducen la concentración de sitios de adsorción y disminuyen la retención de arsénico. Un efecto adicional es el cambio en la carga neta de

la superficie del Su/Se que genera una barrera electrostática entre los aniones de arsénico y los sitios de adsorción[28, 68]. Bajo estas condiciones, el arsenito, al tener una menor carga formal, tiene una ventaja en la interacción en comparación con el arsenato
Tabla 2-1.

2.1.2.3 Reducción de As(V) a As(III)

En general la reducción de As(V) a As(III) en ambientes anóxicos es más rápida que la oxidación de As(III) a As(V) en ambientes oxidantes[68]. Los factores que normalmente intervienen en la reducción de As(V) son la actividad bacteriana y la concentración de H₂S y carbón orgánico[73]. El cambio de condiciones oxidantes a reductoras es la principal causa de liberación de As a fuentes hídricas[52].

2.1.2.4 Disolución reductiva

Consiste en el desplazamiento concomitante por la reducción (principalmente por acción microbiana) de óxidos de manganeso (III/IV) y/o Hierro (III)[36]. Se ha encontrado una alta correlación entre la concentración de oxi-hidróxidos de hierro y el arsénico total, en comparación con otras fases del suelo[7], por lo que la disolución de estos óxidos libera la mayor cantidad de arsénico a fuentes hídricas en ambientes no mineros[28].

Posterior a la disolución, se genera un exceso de cationes Fe (II) que pueden entrar en otros procesos de mineralización para generar oxi-hidróxidos más cristalinos como la goetita (α -FeOOH), la magnetita (Fe₃O₄) o la hematita (Fe₂O₃)[72]. Estos minerales tienen una alta capacidad de retención de arsénico[36]. Sin embargo, al tener una menor área superficial por la organización de la red cristalina, la retención es considerablemente menor que para oxi-hidróxidos amorfos originales, obteniendo una disminución neta en la capacidad de retención de arsénico.

2.1.3 Impacto ambiental

La concentración de arsénico en el medio ambiente puede pasar a concentraciones peligrosas en matrices ambientales por fenómenos naturales o por actividades económicas humanas.

2.1.3.1 Por enriquecimiento Natural

Inevitablemente, existen procesos de desorción natural de arsénico a fuentes hídricas. La principal razón es la concentración de arsénico en ciertas zonas mineralógicas, donde puede llegar a ser tan alta como el 1% en minerales arsenicosos y cercano al 50% en minerales estequiométricos[68], y los cambios propios de la evolución de la corteza terrestre (cambio climático, erupciones volcánicas, etc). Estos factores proveen las condiciones necesarias para que el transporte del arsénico entre Su/Se y fuentes hídricas se dé sin intervención humana. El arsénico producto de la desorción/disolución de fases ricas en este metaloide, genera lixiviados que por contacto con Su/Se es adsorbido, gracias a su alta retención en los componentes (principalmente oxi-hidróxidos de hierro y aluminio, (Tabla 2-1) presentes en estas matrices[72].

2.1.3.2 Por enriquecimiento Antropogénico

El desarrollo de actividades industriales ha tenido una gran responsabilidad en el aumento de arsénico en fuentes hídricas en todo el mundo[7]. La razón, es el uso previo de este metaloide como ingrediente principal de ciertos insecticidas como el arsenato de plomo, arsenato de calcio, metilarsenato de sodio y dimetilarsenato de sodio[52]. Esto incentivó que la producción de arsénico hasta mitad del siglo XX fuera del orden de cientos de miles de toneladas, eventualmente ocasionando que fábricas de pesticidas arsenicosos, campos agrícolas contaminados y minas de extracción de arsénico, se convirtieran en focos de riesgo para poblaciones aledañas[37]. Adicionalmente, la minería de oro, plata, cobre, zinc, entre otros, ha generado focos de emisión de arsénico por el alto porcentaje de minerales arsenicosos en estos yacimientos[74].

2.1.3.1 Arsénico en el Mundo

La mayoría de las ocurrencias de alta concentración de arsénico en agua superficial y subterránea son ocasionadas por procesos naturales, como actividad geotérmica o disolución reductiva oxi-hidroxidos de hierro en el Su/Se. India y Bangladesh, han sido los países más afectados por estos procesos, ocasionando recurrentemente múltiples enfermedades, crónicas y agudas[5, 75-77]. Los altos índices de enfermedades ligadas al arsénico, han sido asociados a la ingesta prolongada de agua de pozo contaminada, a la densidad poblacional y a las medidas sanitarias de las zonas afectadas[60].

Por otro lado, México, Perú, Chile y Argentina, han sido los países con el mayor número de casos confirmados de enfermedades ligadas al arsénico en Latinoamérica[78]. Dentro de estos países se ha identificado el mayor impacto en poblaciones cercanas a yacimientos mineros[70]. El riesgo de contaminación eventualmente ha sido potenciado por la ingesta de agua de pozo contaminada.

2.1.3.2 Arsénico en Colombia

En los últimos años, nuestro grupo de investigación ha venido estudiando el grado y extensión de la contaminación de arsénico en el país. Por este motivo se desarrolló una recopilación de los estudios a nivel nacional [6]. En esta recopilación, se muestran concentraciones de arsénico tan altas como $10.000 \text{ mg.kg}^{-1}$ en sedimentos, concentraciones alarmantes de arsénico en agua destinada a irrigación y consumo humano (52 $\mu\text{g/L}$), fresas (0,36 mg/kg), vegetales (5,40 mg/kg), leche (76 $\mu\text{g/L}$) y carne de res (1,58 mg/kg).

En este estudio se planteó que el alto nivel de arsénico en suelo y sedimento ($>40\text{mg/kg}$) en los departamentos de Caldas, Chocó, Santander y Tolima, puede ser atribuido a su liberación por actividades mineras. Sin embargo, se aclaró que con la información disponible, no es posible dar una conclusión contundente. Si bien se han hecho diversos estudios en su mayoría dirigidos por el Servicio Geológico Colombiano, se concluyó que es necesario hacer más estudios para entender el origen y extensión de contaminación de arsénico en zonas de riesgo[79].

2.1.4 Indicadores de contaminación

2.1.4.1 Factor de enriquecimiento (FE)

El factor de enriquecimiento es una representación del grado de la acumulación de un elemento determinado en una muestra en comparación con su valor de referencia, y relativo a un componente conservativo³ del suelo. Puede ser utilizado para determinar si los metales en el sedimento tienen un origen antropogénico[80].

$$FE = \frac{(Y/X)_c}{(Y/X)_b} \quad (1)$$

Y: concentración del elemento de interés.
X: concentración del elemento de referencia.
c=concentración en el sitio de muestreo.
b=concentración basal de la zona.

Para poder identificar las concentraciones anómalas de los elementos usando el FE, se realiza una normalización geoquímica la cual consiste en dividir la concentración del elemento de interés por un elemento conservativo (Fe, Al, Si, Ba, Ti, en este caso Al). Se dice que no hay enriquecimiento si FE es menor a 1, si está entre 1 y 3 el enriquecimiento es moderado, de 5 a 25 es severo, de 25 a 50 es muy severo y mayor a 50 extremadamente severo[81].

2.1.4.2 Índice de geoacumulación (I_{geo})

El índice de geoacumulación se ha empleado como indicador del grado de acumulación de un elemento (X) en una muestra (C), en comparación con su concentración basal de la zona (B)[80].

$$I_{geo} = \log_2 \frac{X_c}{1.5X_B} \quad (2)$$

Para la determinación de la concentración en el blanco de procedimiento, se han empleado resultados históricos[82], con lo que se conserva la identidad espacial y se puede llegar a conclusiones más precisas sin hacer uso de suposiciones adicionales. Sin embargo, en caso de ser una zona de muestreo nueva o con pocos estudios, la concentración base de los elementos suele ser difícil de fijar[81, 83, 84]. En este caso, se tomó a partir de un punto que corresponde a un sedimento que comparte la misma unidad

³ Elementos cuya concentración en los Su/Se se mantiene constante en el tiempo

geológica de los muestreados en el río Suratá, pero sin una entrada directa de los lixiviados mineros (punto 11).

Si el índice de geoacumulación está entre 0 y 1 se considera de clase 1 (no contaminado a moderadamente contaminado), entre 1 y 2 de clase 2 (moderadamente contaminado), entre 2 y 3 de clase 3 (moderadamente a severamente contaminado), entre 3 y 4 de clase 4, severamente contaminado), mayor a 5 de clase 6 (extremadamente contaminado)[81]. La clase 6 refleja un enriquecimiento de 64 veces el valor de la concentración basal.

2.1.4.3 Concentración relativa ($X_{(C)}/X_{(B)}$)

La concentración relativa va a ser utilizada en el presente trabajo para mostrar de una forma rápida la relación entre la concentración del elemento en el punto muestreado $X_{(C)}$ y su concentración en el punto base $X_{(B)}$. Se espera que para las condiciones del muestreo los elementos que se encuentren en condiciones naturales tengan una concentración relativa cercana a 1.

2.1.5 Análisis estadístico de As en Su/Se

Para sacar conclusiones adecuadas del grado de contaminación en una zona de muestreo dada, es necesario contar con herramientas que nos permitan describir y comparar los factores analizados. Hoy en día, estas herramientas se basan en el análisis estadístico descriptivo, aprovechando los avances en la informática para analizar la mayor cantidad de información posible de manera simultánea. Además, el uso de técnicas multivariantes como el análisis por componentes principales permite una asociación simultánea de la totalidad de parámetros analizados lo que implica una comprensión más general de los procesos de enriquecimiento, asociados a la identidad y variabilidad de las muestras.

2.1.5.1 Prueba de Normalidad de Shapiro-Wilk

Dentro de los primeros puntos a tener en cuenta en el análisis estadístico de un conjunto de datos, es identificar si su distribución es normal. Esto tiene un papel fundamental en la selección de los representantes o estadísticos que se emplean para caracterizar y comparar conjuntos de datos[85]. Así, para una distribución que no se comporta de manera normal, la mediana suele ser un mejor representante del conjunto de datos que la

media, y el coeficiente de Spearman una mejor forma de determinar posibles correlaciones que el de Pearson[86].

La prueba de Normalidad de Shapiro-Wilk, es una prueba estadística para determinar si la distribución de un conjunto de datos se comporta siguiendo una distribución normal. Para corroborar esta prueba se plantea como hipótesis nula que los factores de un conjunto de datos (x_1, \dots, x_n) provienen de una población normalmente distribuida. El estadístico del test es:

$$W = \frac{(\sum_{i=1}^n a_i x_i)^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (3)$$

Donde x_i es el valor del factor x en la i -ésima posición, \bar{x} la media muestral, y las variables a_i se calculan mediante la expresión:

$$(a_1, \dots, a_n) = \frac{m^T V^{-1}}{\sqrt{(m^T V^{-1} V^{-1} m)}} \quad (4)$$

Donde $m = (m_1, \dots, m_n)^T$ siendo (m_1, \dots, m_n) los valores medios del estadístico ordenado, de variables aleatorias independientes e idénticamente distribuidas, muestreadas de distribuciones normales y V es la matriz de covarianza de ese estadístico de orden[48].

2.1.5.2 Análisis de correlaciones (AC)

El coeficiente de correlación es un parámetro que permite determinar la dependencia estadística entre dos factores determinados[48]. En el análisis de correlaciones se emplean estos parámetros para encontrar relaciones mediante un análisis de las propiedades específicas y antecedentes del sitio de muestreo inferir episodios espaciales y temporales característicos del sitio de muestreo.

Si se asume una distribución normal y homocedástica, el análisis de correlaciones emplea el coeficiente de correlación de Pearson, pero si por el contrario no se hace ninguna asunción en particular se emplea el coeficiente de Spearman[87]. La diferencia entre el r de Pearson y el ρ de Spearman, radica en que en el primero se comparan los datos pareados directamente, mientras que en el último la relación es entre el rango de los factores[48]. Como se mencionó anteriormente, para poder determinar cuál de los coeficientes de correlación es más adecuado en un muestreo determinado, es necesario

determinar si la distribución de los factores es normal o no. Para esto se emplea la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk (sección 2.1.5.1).

2.1.5.3 Coeficiente de correlación de Spearman (ρ)

En este estudio se cuenta con una gran cantidad de factores que no tienen una distribución normal. Por este motivo se va a definir únicamente el coeficiente de correlación de Spearman por ser el estadístico más relevante para este caso.

Como se mencionó anteriormente, el coeficiente de correlación de Spearman mide el grado de dependencia estadística entre dos factores usando el rango de las mismas[48]. El coeficiente ρ_{xy} es definido como:

$$\rho_{xy} = 1 - \frac{6 \sum_{i=1}^n (d_i^2)}{n^3 - n} \quad (5)$$

Donde $d_i = x_i - y_i$, es la diferencia entre los rangos de los factores x y y , y n es el número de observaciones. Si el valor de ρ_{xy} es cercano a 1 se dice que hay un alto grado de correlación directa entre los factores, si es cercano a -1 que hay un alto grado de correlación inversa, y si esta alrededor de 0 la correlación es débil o inexistente.

Para determinar el grado de significancia del coeficiente ρ_{xy} se emplea el estadístico t para la determinación del valor-p. El valor-p muestra la probabilidad de que dado el valor ρ_{xy} , se obtenga una correlación con un valor igual por azar. Normalmente se dice que el coeficiente ρ_{xy} es significativo si el valor-p es menor o igual a 0.05, o hay un 5% de probabilidad de replicar la correlación obtenida por azar[47].

En la caracterización de posibles fuentes de contaminación por elementos tóxicos, se ha empleado ampliamente el coeficiente de correlación Pearson[81, 82, 88, 89]. Sin embargo, en pocos casos se tienen en cuenta la distribución de los factores analizados, lo que hace las correlaciones calculadas susceptibles a datos anómalos propios de distribuciones no paramétricas. En contraste, hay trabajos donde se hace una caracterización estadística de la distribución de los datos y se emplea el coeficiente de Spearman para encontrar relaciones entre elementos de la matriz de interés[84, 85]. Sin importar si se usa el coeficiente de correlación de Pearson o el de Spearman, los resultados obtenidos siempre deben ser contrastados con otras técnicas estadísticas, información previa, ubicación geográfica del sitio de muestreo, posibles fuentes de

contaminación y propiedades químicas del fenómeno de interés, para darle una adecuada interpretación a las correlaciones encontradas.

2.1.5.4 Análisis de Conglomerados Jerarquizados (ACJ)

Consiste en técnica para la generación de conglomerados basado en la disimilaridad o distancia entre factores. La distancia puede ser determinada a partir de las correlaciones entre factores como: $d=1-\rho$, si se trata de correlaciones de Spearman. La generación de los conglomerados se hace por agrupación de dos factores a la vez, iniciando con las más similares (d mínima). Distancias de 0 suponen un alta similaridad entre factores, a medida que aumenta la distancia se hacen más disimiles hasta alcanzar un valor de 2 que corresponde a comportamientos opuestos (correlación inversa)[48].

2.1.5.5 Análisis de Componentes Principales con rotación varimax (ACP-var).

En los últimos años se ha implementado el uso de técnicas quimiométricas para el análisis, presentación y clasificación de la información obtenida en estudios ambientales[9]. Usando con estas técnicas, se puede entre otras cosas: identificar similitudes entre sitios muestreados, correlacionar parámetros del Su/Se con la concentración de un determinado elemento contaminante o identificar el origen de la contaminación en un determinado conjunto de muestras.

Dentro de las técnicas más empleadas para el análisis de la contaminación en Su/Se están el análisis de componentes principales (ACP) y el análisis de factores (FA)[89-91].

El ACP es una técnica multivariada basada en la reducción de los factores originales del sistema \mathbf{X} , con k factores y s muestras, a un conjunto de n factores latentes conocidos como componentes principales (CPs). Los CPs son combinaciones lineales de los factores originales ortogonales entre sí, lo que les permite recoger la mayor cantidad de información (variabilidad) del sistema. El proceso de reducción se lleva a cabo por la descomposición de \mathbf{X} a dos matrices \mathbf{T} y \mathbf{P} :

$$\mathbf{X} = \sum_{i=1}^n t_i \mathbf{p}_i^T + \sum_{a=n+1}^k t_a \mathbf{p}_a^T = \mathbf{TP}^T + \mathbf{E} = \mathbf{X}^* + \mathbf{E} \quad (6)$$

Donde,

$\mathbf{P}(k \times n)$ es la matriz de *loadings* que contiene los valores propios que definen la dirección de mayor variabilidad del nuevo subespacio n -dimensional; $\mathbf{T}(s \times n)$ es la matriz de scores

que contiene la ubicación de las proyecciones ortogonales de las muestras en el espacio latente; \mathbf{X}^* la matriz que representa el sistema después de la reducción de factores y \mathbf{E} es la matriz residual la cual contiene ruido estadístico[48].

Simplificando la terminología, se puede decir, que los loadings muestran el peso de las factores originales a cada componente principal (CP), construyendo un nuevo sistema de factores reducidos de $(k \text{ a } n)$. Los scores muestran la ubicación de las muestras en este nuevo sistema. Idealmente el producto de *loadings* y *scores* (\mathbf{TP}^T) reconstruyen de forma aproximada el sistema original. La reducción de factores, permite una fácil interpretación de la variabilidad del sistema como un todo, y no en términos de factores individuales.

La reducción de factores empleada en el ACP, no provee una solución infalible para la separación de diferentes fuentes de variabilidad en un sistema, razón por la cual los PCs no siempre se relacionan con los factores originales de una forma intuitiva. Por esta razón, metodologías como la rotación varimax, permiten maximizar la representatividad de los *loadings* para facilitar su interpretación[9]. El uso de la rotación varimax con ACP (ACP-var), se ha utilizado ampliamente en el análisis ambiental para identificar fuentes y relaciones entre contaminantes y otros factores propios de cada matriz[8, 10, 92, 93].

El análisis de *loadings* permite asociar factores entre si y encontrar su nivel de aporte a la variabilidad global del sistema. Se dice que si el valor absoluto del loading para un determinado CP es superior a 0,60 el nivel de aporte del factor a dicho CP es significativo[92].

2.2 Procedimiento Experimental

2.2.1 Zona de estudio

El distrito minero de Vetas-California comprende un área aproximada de 50 km², 7 municipios (Bucaramanga, California, Charta, Matanza, Suratá, y Vetas). La riqueza mineral de la zona ha sido ampliamente estudiada por organismos nacionales y empresas de exploración minera multinacionales[44, 58, 94-98]. En los últimos años, por políticas nacionales se ha intensificado la extracción minera a gran escala en la zona[1].

Este distrito minero, se encuentra ubicado en la parte alta de la subcuenca del río Suratá, en el páramo de Santurbán, Santander, Colombia. Este territorio es una zona con un alto valor estratégico como fuente hídrica primaria de 2 grandes ciudades (Bucaramanga y Cúcuta) y 21 municipios en los departamentos de Santander y Norte de Santander, abasteciendo a aproximadamente 1'700.000 habitantes[99].

Debido a la importancia ecológica y sanitaria de la zona y a las condiciones de vulnerabilidad inherentes al desarrollo de actividades mineras, el objetivo principal de este estudio fue determinar si hay una concentración de arsénico fuera de las condiciones basales ó naturales en la zona, para ello se evaluó las muestras tomadas de Su/Se y agua superficial en un estudio realizado en el grupo, con el objetivo de hacer un análisis profundo de la información obtenida y encontrar las formas y posibles fuentes de enriquecimiento, usando herramientas estadísticas multivariadas.

2.2.2 Muestreo

Se realizó un muestreo exploratorio durante el mes de junio de 2013[44], tomando muestras distribuidas a lo largo de la subcuenca del Río Suratá en áreas potencialmente afectadas por minería aurífera (anexo 1). El muestreo consistió en: 11 muestras puntuales de aguas superficiales, 7 sedimentos activos del Río Suratá y algunos de sus principales afluentes y 3 muestras de suelos tomados en colas mineras, ubicadas en los municipios de *Vetas, California, Suratá, Matanza, Charta y Bucaramanga (Santander)*[58]. El punto 11, fue tomado en el río *Charta*, un afluente del río *Suratá* aislado de contaminación

minera. Este punto fue establecido como el representante de la concentración base para todas las muestras de sedimento y agua superficial.

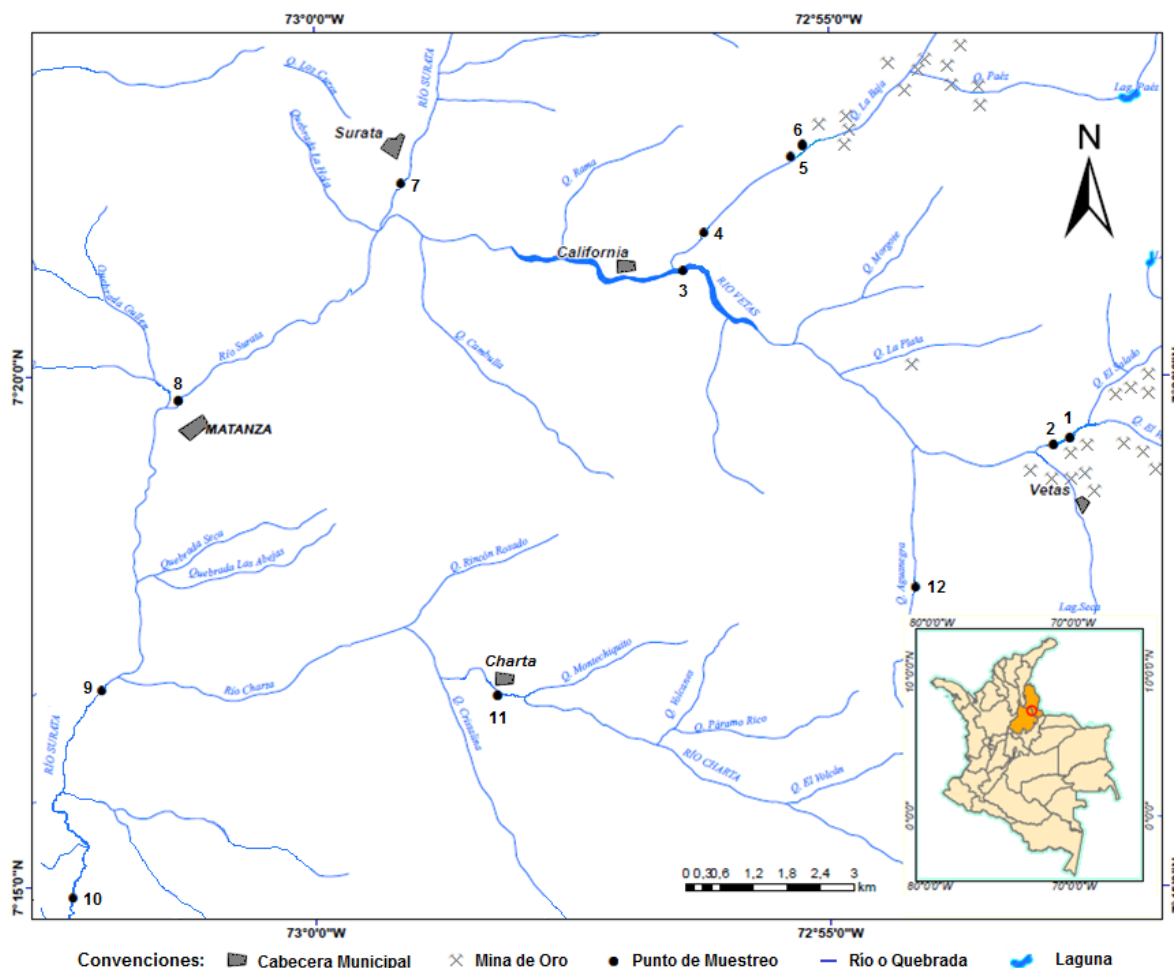


Figura 2-2. Mapa zona de muestreo [Ref]. Se: Sedimiento activo (*Sedimento seco), AS: Agua Superficial.

Descripción del sitio de muestreo

#	Sitio de Muestreo	Se	AS	#	Sitio de Muestreo	Se	AS
1	Quebrada Agua Blanca	SI*	SI	7	Río Suratá Municipios Suratá-Mantanza	SI	SI
2	Río Vetás	SI	SI	8	Río Suratá 2 Municipios Matanza-Gualmal	SI	SI
3	Río Vetás 2	SI	SI	9	Río Suratá 3 Municipio El Aburrído	SI	SI
4	Quebrada La Baja	NO	SI	10	Río Suratá 4 Vereda Rosa Blanca	SI	SI
5	Suelo Minero proyecto Angostura	SI*	NO	11	Rio Charta	SI	SI
6	Quebrada La Baja 2	SI*	SI	12	Quebrada Los Ranchos	NO	SI

2.2.3 Parámetros Analíticos

Se determinaron 53 factores a los Su/Se y 32 a las muestras de agua superficial[44]. El resultado obtenido para Arsénico pseudototal (extraíble) en Su/Se fue contrastado por dos técnicas de cuantificación: Análisis de activación neutrónica (NAA) en el Reactor Nuclear RA-6 del Centro Atómico Bariloche (San Carlos de Bariloche, Argentina) y Absorción atómica con generación de hidruros después de extracción asistida con ultrasonido (AAGH-EAU). Adicionalmente se determinó tres fracciones de As en las muestras de Su/Se mediante el uso de extracciones monoetapa con agua desionizada ($As_{(H_2O)}$), hidróxido de sodio ($As_{(NaOH)}$) y ácido clorhídrico ($As_{(HCl)}$).

Tabla 2-2. factores fisicoquímicos determinados a las muestras de Su/Se y aguas superficiales[44].

Matriz	Factor
Sedimentos	pH, Textura (arena, limo y arcilla), Carbono Orgánico Total (%COT), Bases intercambiables (Na, K, Ca, Mg), Capacidad de intercambio catiónico.
	Elementos Traza determinados por NAA (Ag, As, Au, Ba, Ce, Co, Cr, Cs, Cu, Dy, Eu, Hf, La, Lu, Nd, Rb, S, Sb, Sc, Sm, Sr, Th, U, V, W, Y, Yb, Zn, Zr)
	Elementos Mayoritarios (Al_2O_3 , CaO, Fe_2O_3 , K_2O , MgO, Na_2O , P_2O_5 , SiO_2 , TiO_2)
	$As_{(H_2O)}$: Arsénico extraído con agua acidificada con ácido acético a pH a $5,0 \pm 0,2$ durante 24 h a temperatura ambiente.
	$As_{(HCl)}$: Arsénico extraído con ácido clorhídrico 1,0 M durante 20 minutos a temperatura ambiente.
	$As_{(NaOH)}$: Arsénico extraído con hidróxido de sodio 0,10 M durante 17 h at temperatura ambiente.
	$As_{(EAU)}$: Arsénico extraído con agua regia ($HNO_3:HCl$, 1:3), asistido por ultrasonido durante 54 min.
Agua Superficial	Conductividad, pH, Potencial Red-Ox, Salinidad y Sólidos Disueltos Totales (TDS).
	Elementos Traza (Ag, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cs, Cu, La, Mn, Ni, Pb, Sc, Sr, Th, U, V, Zn)

2.2.4 Análisis estadístico

La información recolectada fue analizada utilizando el lenguaje estadístico R[100], en 4 etapas: pre-tratamiento de datos, análisis descriptivo, análisis de correlaciones (análisis de conglomerados jerarquizados) y análisis por componentes principales, de la siguiente manera:

En la etapa de pre-tratamiento de datos, se reemplazaron los datos faltantes por valores que representen el punto de forma aproximada, con el fin de tener un mismo tamaño muestral para todos los factores y para facilitar el cálculo de los componentes principales. Así, para los resultados obtenidos, se encontró una concentración inferior al límite de detección para plata y oro en 3 de los sedimentos muestreados, estos valores faltantes fueron reemplazados con el límite de detección de la técnica para estos dos metales ($LDM_{Ag}=0,4\text{mg.kg}^{-1}$, $LDM_{Au}=0,02\text{mg.kg}^{-1}$).

Para el análisis descriptivo, se determinó el valor promedio, máximo y mínimo de cada factor, se realizó una gráfica de caja y bigotes (paquete *boxplot*) para los indicadores I_{geo} y FE, teniendo en cuenta los elementos con mayor grado de contaminación ($I_{geo}\geq 1$ y $FE\geq 2$), con el fin de comparar la distribución de estas factores a mayor profundidad y encontrar posibles anomalías entre los sitios de muestreo.

Para hacer una clasificación efectiva, inicialmente se realizó la prueba de *Shapiro Wilk* (paquete *Shapiro.test*) con el fin de determinar si los factores analizados tienen una distribución normal. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, se empleó el análisis de conglomerados jerarquizados con correlación de Spearman (paquete *hclust*) para buscar agrupaciones entre los factores de sedimentos, aguas superficiales y la combinación de las dos.

De manera análoga el análisis por componentes principales (paquete *FactoMineR*[101]), fue calculado para cada matriz por separado y simultáneamente. Se determinó el número de componentes principales (CPs) óptimo (varianza explicada $\geq 80\%$) y se empleó la rotación *varimax* (paquete *varimax*), para maximizar el aporte de cada *loading* y aumentar la interpretabilidad de cada componente. Se realizaron los gráficos de loadings y scores para la combinación de los tres componentes.

2.3 Resultados y Análisis de Resultados

La Tabla 2-3 muestra un resumen de los resultados obtenidos en la caracterización de las muestras tanto de Su/Se como de Aguas superficiales. La ubicación del muestreo se fijó de tal manera que las muestras recolectadas correspondieran a la misma unidad geológica, con el fin de tener cierto grado de uniformidad en cuanto a composición y estructura[44]. Los resultados obtenidos son mostrados en el anexo 2. Sin embargo, el análisis estructural concerniente a los factores Arena, Limo y Arcilla, muestra una disminución en la distribución del tamaño de partícula, lo que sugiere la existencia de procesos de fragmentación del material original y/o acumulación de material externo ajenos al desarrollo geológico natural de la zona. Excluyendo los sedimentos secos, puntos 1, 5 y 6, las muestras en las que se evidencia la mayor disminución son los sedimentos cercanos a las colas mineras, puntos 2 y 3. Este hecho, supone que el cambio en textura está sujeto a procesos de erosión posiblemente potenciados o enriquecidos por las actividades de extracción aurífera desarrolladas en la zona.

Otro factor que puede ser relacionado con la actividad minera, es la disminución del pH evidente en el punto 2 y 3 que registraron un pH dos unidades por debajo del resto de sedimentos. La disminución del pH puede ser consecuencia de la exposición de la mena de oro a la atmosfera, concretamente a la acción del oxígeno y el agua sobre los sulfuros que la conforman para formar ácido sulfúrico[38].

Un aumento en el pH puede traer consecuencias significativas a nivel de estructura y composición del sedimento[102]. Sin embargo, las distintas tendencias encontradas en las muestras de sedimentos para los factores analizados requieren una asociación adicional teniendo en cuenta la composición del material parental, y distintas posibilidad de elementos introducidos por fuentes externas. Por ejemplo, se observó que la concentración de algunos elementos (Ag, As, Au, Cu, W, y Zn) ligados a minerales contenedores de oro identificados en la zona[97, 103] aumentaba de manera inversa con la distancia a las minas de oro. Esto puede ser atribuido al enriquecimiento por la disolución de la mena de oro expuesta en el proceso de extracción y posterior transporte a lo largo del río, lo que concuerda con lo observado tanto en el análisis estructural como en el de pH.

Tabla 2-3. Resumen resultados Su/Se y aguas superficiales cuenca alta del río Suratá.

Su/Se						Agua Superficial					
Número	Factor	unidades	Prom	Max	Min	Número	Factor	unidades	Prom	Max	Min
1	Arena	%	90,5	96,6	75,3	1	pH	-	7,4	7,8	6,4
2	Limo		6,3	17,1	1,2	2	Cond.	$\mu\text{S.cm}^{-2}$	346	1575	34,8
3	Arcilla		3,2	7,6	1,8	3	TDS	mg.L^{-1}	237	1099	24,5
4	pH	-	6,5	7,6	4,3	4	Sal.		185	782	17,4
5	Ca	(meq.100g ⁻¹)	1,21	1,83	0,33	5	Ev	mV	-38	54	-85
6	Mg		0,19	0,35	0,11	6	As	$\mu\text{g.L}^{-1}$	16,2	52,3	0,6
7	K		0,19	0,25	0,14	7	Ba		25	47,1	11,2
8	Na	0,11	0,18	0,06	8	Cd	7,7		76,2	0,1	
9	BT	1,7	2,3	0,7	9	Cs	0,4		1,6	0,1	
10	COT	0,14	0,32	0,07	10	Zn	296		1980	18	
11	SiO ₂	71,9	74,1	69,7	11	Co	10,2		72,8	0,2	
12	Al ₂ O ₃	13,3	16,6	10,3	12	Cu	731		7218	6	
13	Fe ₂ O ₃	4,35	7,15	3,13	13	Cr	3,0		7,1	1,1	
14	K ₂ O	4,04	7,33	2,72	14	Sc	5,6		17,2	2,3	
15	CaO	1,26	2,13	0,25	15	Sr	253		1478	22	
16	Na ₂ O	1,29	2,63	0,41	16	La	0,8	1,5	0,2		
17	MgO	1,18	1,86	0,52	17	Mn	872	3987	24		
18	TiO ₂	0,57	0,71	0,40	18	Ni	20	119	2		
19	P ₂ O ₅	0,19	0,28	0,04	19	Ag	0,3	1,3	0,1		
20	MnO	0,11	0,18	0,08	20	Pb	7,4	23,3	1,4		
21	S	0,58	1,75	0,02	21	Th	0,2	0,8	0,1		
22	Sb	10,4	31,0	0,3	22	U	12,0	94,0	0,1		
23	As	117	484	2	23	V	1,3	2,4	0,2		
24	Ba	781	1040	393							
25	Cs	5,7	7,2	2,9							
26	Ce	158	202	102							
27	Zn	246	594	87							
28	Zr	214	473	111							
29	Co	20	37	14							
30	Cu	142	361	32							
31	Cr	78	135	28							
32	Dy)	9,5	16,8	6,2							
33	Sc	18,4	23,0	16,2							
34	Sr	304	390	230							
35	Eu	1,9	2,5	1,5							
36	Hf	18,3	31,2	5,6							
37	Yb	5,5	8,1	3,5							
38	Y	60,8	74,5	43,2							
39	La	69,5	95,1	48,0							
40	Lu	1,1	1,5	0,7							
41	Nd	64,6	89,1	44,4							
42	Au	16,00	38,70	0,02							
43	Ag	4,6	13,4	0,4							
44	Rb	169	237	122							
45	Sm	12,8	16,3	9,2							
46	Th	26,4	41,4	17,7							
47	W	54	175	2							
48	U	10,1	17,5	7,6							
49	V	152	194	102							
50	AS _{USE}	99	419	2							
51	AS _{H2O}	3,20	14,70	0,01							
52	AS _{HCl}	14,00	54,20	0,07							
53	AS _{NaOH}	18,90	86,70	0,04							

En el caso del arsénico, se observó un aumento de la concentración relativa a lo largo del río, llegando a un valor máximo de 220 y 64,9 veces mayor a la concentración del blanco de procedimiento en el punto 2 para sedimento y agua superficiales respectivamente, Figura 2-3.

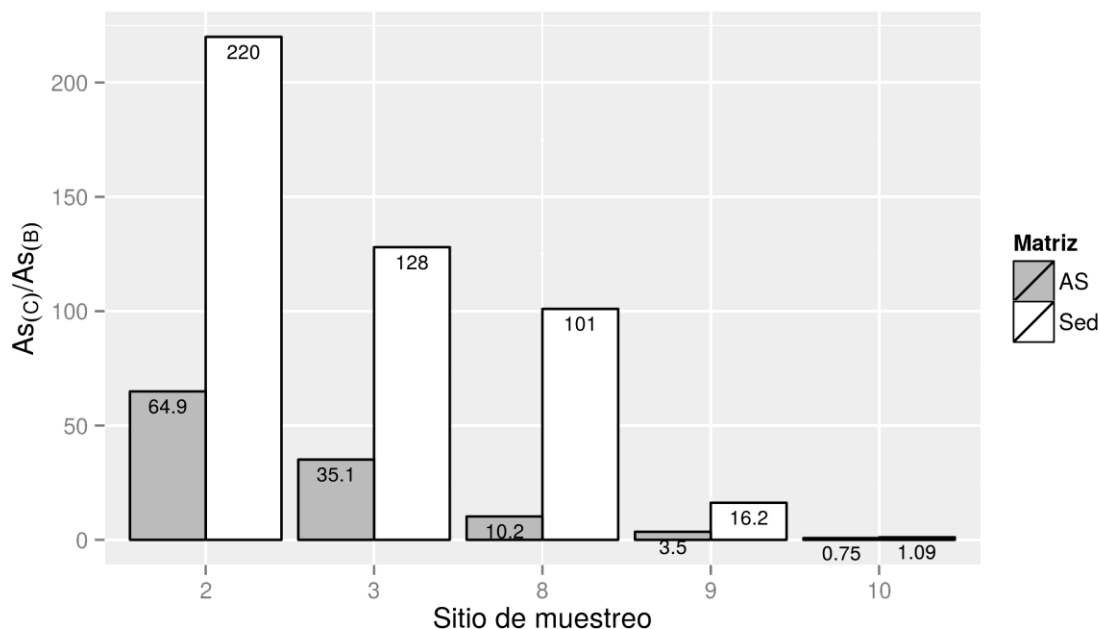


Figura 2-3. Concentración relativa de arsénico para sedimentos y aguas superficiales a lo largo del río Suratá. AS: Agua superficial, Sed: Sedimentos.

En el caso de los sedimentos, el comportamiento observado contrasta con la concentración, al menos un orden de magnitud menor, encontrada en las muestra control, punto 7 y 11 ($2,4$ y $2,2 \text{ mg.kg}^{-1}$) y los suelos mineros, puntos 5 y 6 ($70,4$ y $62,2 \text{ mg.kg}^{-1}$). Esto sugiere que el aumento en la concentración de arsénico en el lecho fluvial depende principalmente de la acumulación y no de la distribución natural del elemento.

Por otro lado, el agua superficial muestreada en el punto 6 (*quebrada La baja*), y que corresponde a uno de los sitios más cercanos a la zona de extracción minera, mostró ser la que tiene la mayor concentración no solo de arsénico sino de una variedad de metales a niveles tóxicos (Cd, Co, Cu, Mn, Ni, U y Zn). A pesar de esto, no se observaron pHs inferiores a 6,38 que constituye un pH neutro, teniendo en cuenta la alta probabilidad de

contacto con lixiviados mineros. Esto se puede deber al caudal del río o a la concentración de compuestos alcalinos que pueden diluir y/o neutralizar los lixiviados.

Las tendencias de la concentración a lo largo del río Suratá para las distintas fracciones analizadas ($As_{(H_2O)}$, $As_{(HCl)}$ y $As_{(NaOH)}$) mostró ser muy similar a la de arsénico pseudototal (Figura 2-4). Sin embargo, su concentración relativa varió drásticamente en magnitud. La concentración de arsénico

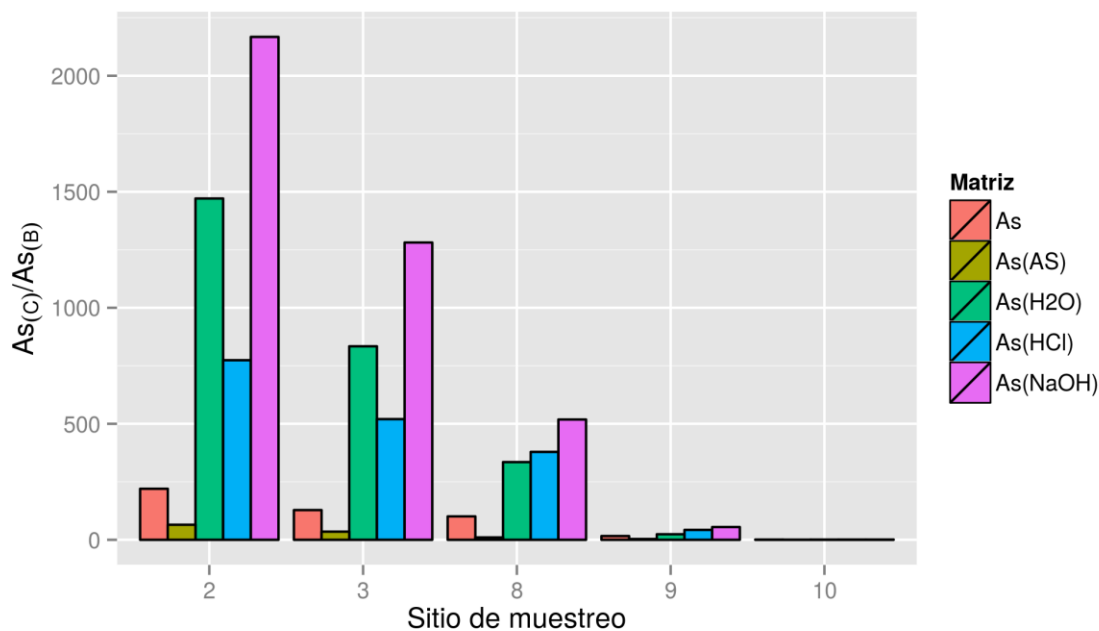


Figura 2-4. Concentración relativa de arsénico para arsénico pseudototal (As), en agua superficial ($As_{(AS)}$), extraído con agua desionizada ($As_{(H_2O)}$), extraído con ácido clorhídrico ($As_{(HCl)}$) y extraído con hidróxido de sodio $As_{(NaOH)}$.

Las extracciones monoetapa se basaron en distintas metodologías de extracción secuencial, con el fin de tener una información aproximada sobre la distribución y labilidad del arsénico en el sedimento. El $As_{(H_2O)}$ representa la concentración de arsénico biodisponible con interacciones no más fuertes que la atracción electrostática y la solubilidad del arsénico asociado a carbonatos[104]. El $As_{(NaOH)}$ y el $As_{(HCl)}$, muestran adicionalmente, fracciones con interacción más intensas como arsenato enlazado a la superficie de óxidos y oxi-hidróxidos amorfos de hierro y aluminio[105, 106]. La concentración relativa de arsénico en estas fracciones ($As_{(C)}/As_{(B)}$), en comparación con la pseudototal (As) y la observada en agua superficial ($As_{(AS)}$), implica un alto grado de enriquecimiento en fracciones lábiles y asociadas con oxi-hidróxidos de hierro y aluminio,

lo que concuerda con lo esperado durante los procesos de regulación por remineralización natural de arsénico[36].

Este resultado es muy importante, debido a que si bien la determinación de la concentración de arsénico pseudototal es relevante en estudios de impacto ambiental, la concentración en fracciones más móviles en comparación (como las analizadas), permite determinar de una forma más precisa el grado de peligro en que la especie puede estar en contacto con el medio.

2.3.1 Índices de contaminación (I_{geo} , FE)

$\mu\text{g.L}^{-1}$ Los indicadores I_{geo} y FE mostraron tendencias bastantes similares. Dentro de los elementos analizados los que presentaron un mayor enriquecimiento fueron Ag, As, Au, Cu, Sb, W, Zn y Zr, sobresaliendo el arsénico, el antimonio, la plata y el oro, con valores que indican un enriquecimiento extremo.

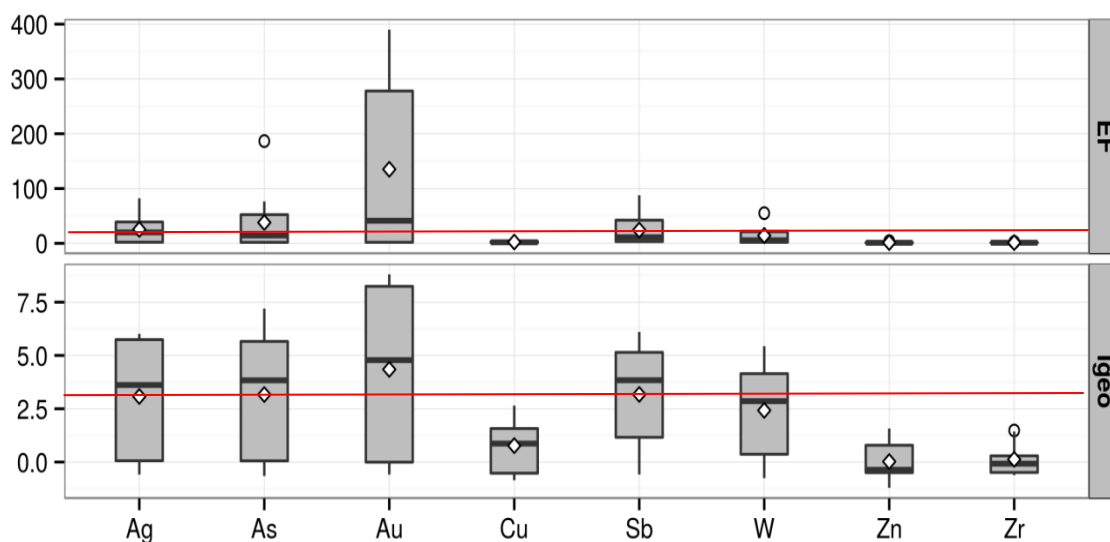


Figura 2-5 Boxplot del Índice de Geoacumulación (I_{geo}) y Factor de enriquecimiento (FE) Para los elementos con enriquecimiento/contaminación igual o superior a moderado. El rombo (◊) muestra el valor promedio y el círculo (○) marca los datos anómalos o outliers para cada distribución. La línea roja muestra el límite por encima del cual se considera que hay una contaminación severa.

Para el factor de enriquecimiento (FE) y de geoacumulación (I_{geo}) se ve que cerca del 50% de los resultados para Ag, As, Au y Sb tienen un nivel de acumulación severa. Los sitios con mayor acumulación de As, Zn, W y Sb fueron los sedimentos 2,3 y 8, todos ubicados

a lo largo del río Suratá. El enriquecimiento de Zr y Cu coincide con una alta concentración de azufre y se observó en los suelos mineros 5 y 6. De estos elementos, el zirconio es conocido como un elemento conservativo[107], lo que sugiere que el aumento extremo en la concentración de este elemento ha sido producto de la disolución de otros componentes más lábiles presentes en la matriz.

2.3.2 Análisis de correlaciones (AC)

Para determinar correlaciones relacionadas a factores específicos de la zona muestreada, se estableció que las muestras analizadas compartan los mismos factores. Por este motivo, de los puntos muestreados de Su/Se y AS solamente se empleó en el análisis de correlaciones (AC), sedimentos activos que tengan asociada un agua superficial (puntos 2, 3, 7, 8, 9, 10 y 11). Además, para emplear el estadístico de correlación más robusto, se determinó si los factores para este conjunto de muestras tienen una distribución normal. El ensayo empleado para este fin es la prueba de *Shapiro-Wilk* [48, 92, 108]. La Figura 2-4 muestra los valores-p para todos los factores determinados en cada matriz.

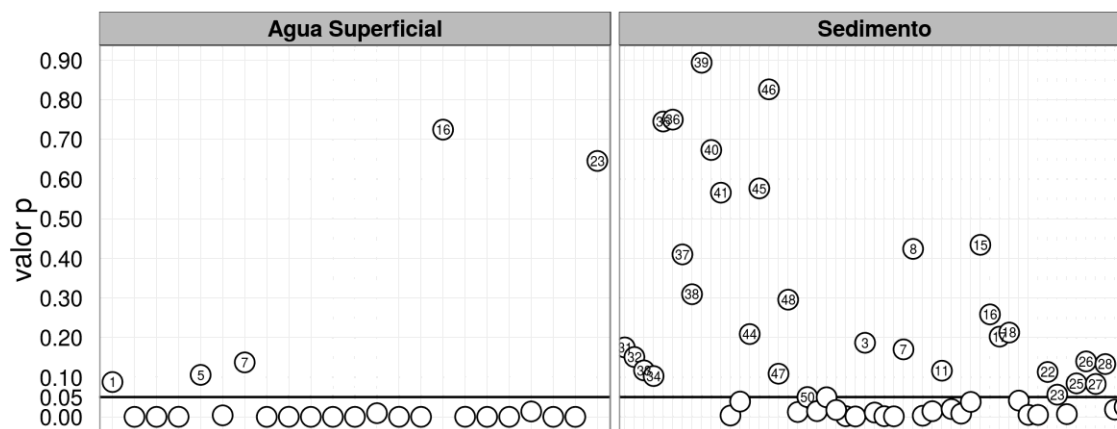


Figura 2-6 Valor-p de la prueba de Shapiro-Wilk para los factores medidos en sedimentos y agua superficial. La línea horizontal señala el valor-p=0,05.

Como se puede observar, una gran cantidad de factores tuvieron un valor-p menor a 0,05 para las dos matrices. Esto indica que hay una probabilidad menor al 5% que las muestras tengan una distribución normal.

Como consecuencia de estos resultados, se decidió emplear el coeficiente de correlación de Spearman (ρ), al ser un indicador más robusto para distribuciones no

paramétricas[109]. Para el análisis de los coeficientes de correlación, se empleó el análisis de conglomerados jerarquizados (ACJ) para la construcción de tres dendogramas uno para cada matriz y uno para la combinación de las dos.

Para los factores determinados en los sedimentos se observaron dos conglomerados principales, Figura 2-7. El primero agrupó el arsénico pseudototal (cuantificado tanto por NAA, As, como por AAHG-EAU, $As_{(EAU)}$) con Zn, Cu, Sb y W, los cuales constituyen elementos asociados a la presencia de minerales estequiométricos y arseniosos en la zona[96-98, 103]. Adicionalmente, se observó una división entre el Arsénico pseudototal y las fracciones extraídas con ácido clorhídrico e hidróxido de sodio ($As_{(HCl)}$ y $As_{(NaOH)}$). Esta división, si bien es sutil, concuerda con las diferentes formas de asociación del arsénico en el sedimento. Por un lado, las fracciones $As_{(HCl)}$ y $As_{(NaOH)}$ extraen el arsénico presente en fases relativamente lábiles, como complejos de coordinación superficiales en oxi-hidróxidos de hierro y aluminio, y la fracción pseudototal extrae tanto estas fases como los minerales cristalinos más estables [110].

En el segundo conglomerado se observa principalmente la relación entre la fracción $As_{(H_2O)}$ y la concentración de Al_2O_3 , Fe_2O_3 , %COT y MnO, lo que sugiere que esta fracción está relacionada a la formación de complejos de coordinación altamente lábiles. Estas interacciones débiles entre el arsénico y los componentes del sedimento pueden ser atribuidas a la presencia mayoritaria de especies móviles, esencialmente a la presencia de As(III)[36]

De igual forma a lo encontrado para sedimentos, el dendograma construido para agua superficial Figura 2-8 muestra dos conglomerados principales. En el primero, se relaciona la concentración de As, Mn y Zn con el potencial redox, lo que concuerda con lo esperado en un proceso de disolución reductiva[68], donde la reducción de Mn(IV) y Fe(III) conlleva la disolución de oxi-hidróxidos que permite la liberación de arsénico y otros componentes contaminantes.

El segundo conglomerado relaciona la conductividad, salinidad y SDT con la concentración de la mayoría de elementos metálicos entre los que destacan Cr, Cd y Pb por su toxicidad. El pH relativamente alto de las muestras (6,38-7,85) y su baja correlación con elementos como Cd ($\rho=-0,490$), sugiere que el proceso que da origen a su enriquecimiento en aguas superficiales no obedece directamente a contaminación por lixiviados mineros.

El dendograma construido a partir de la unión de las dos matrices, sedimento y agua superficial (AS), mostró una tendencia similar a la encontrada para cada matriz individualmente. Una división en dos conglomerados principales, uno relacionado con arsénico y otros elementos con alto I_{geo}/EF y el otro relacionado con factores conservados y la fracción de arsénico más lábil. Para el primer conglomerado se observó relaciones entre la concentración de Cu y Zn en ambas matrices, lo que sugiere que los dos metales tienen una procedencia común. De igual forma la concentración de arsénico en agua superficial se agrupó con las fracciones solubles en HCl y NaOH. Esto sumado a la relación con Eh y Mn observado en este dendograma, sugiere que la concentración de arsénico en agua superficial esta controlada por procesos de disolución reductiva de óxidos de manganeso (probablemente hierro también)[68].

El $As_{(H_2O)}$ fue agrupado con pH, elementos mayoritarios (ej. Al_2O_3 , Fe_2O_3) y conservativos (ej. Dy, Eu, Hf, Nd, Sm y Th). Esto se puede relacionar con procesos de adsorción por relaciones electrostáticas entre los componentes del sedimento y el arsénico, puesto que a pH cercano al neutro se va a ver una mayor interacción de este metaloide con componentes mayoritarios como Fe_2O_3 , Al_2O_3 y MnO[36].

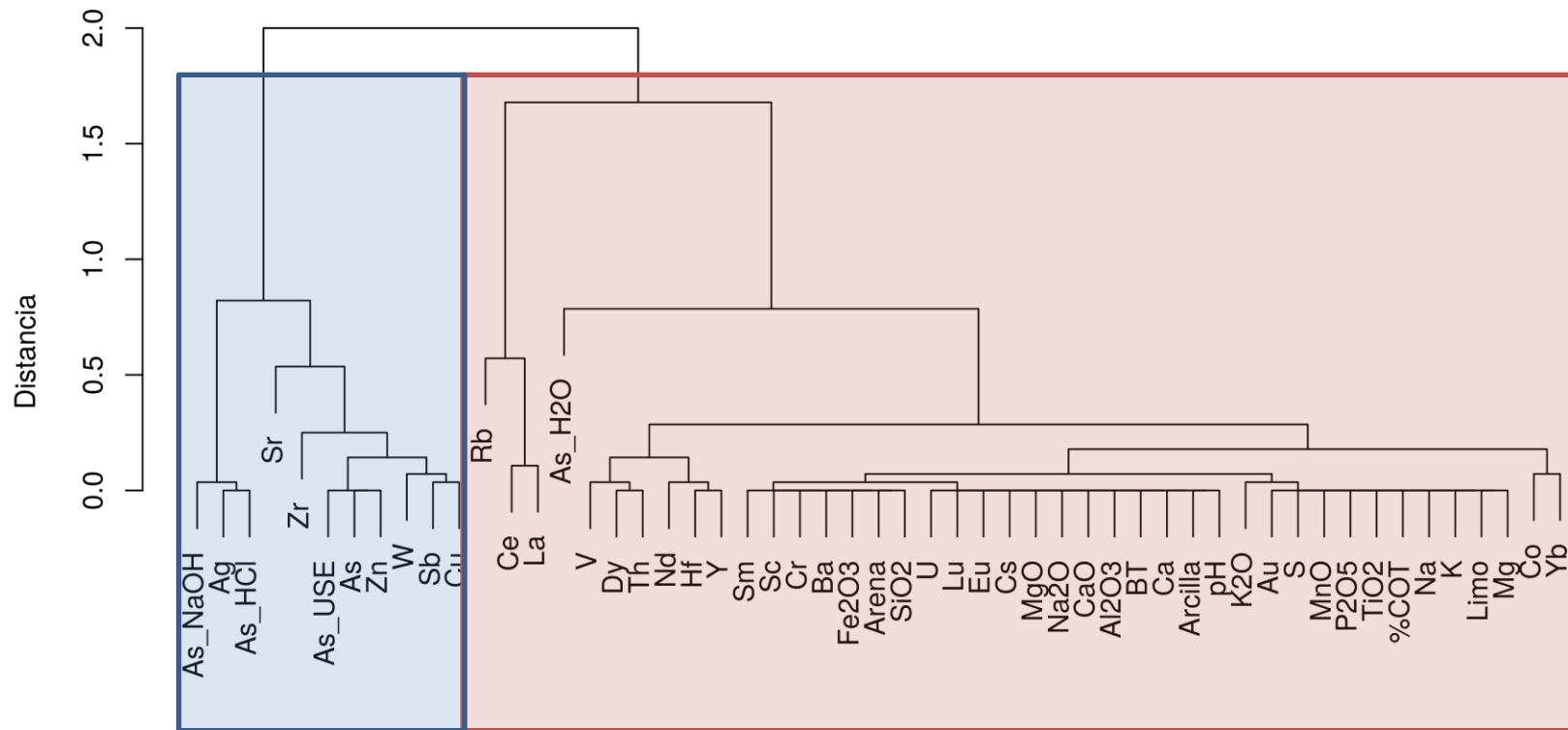


Figura 2-7 Dendrograma de los factores analizados para suelos y sedimentos, usando correlaciones de Spearman.

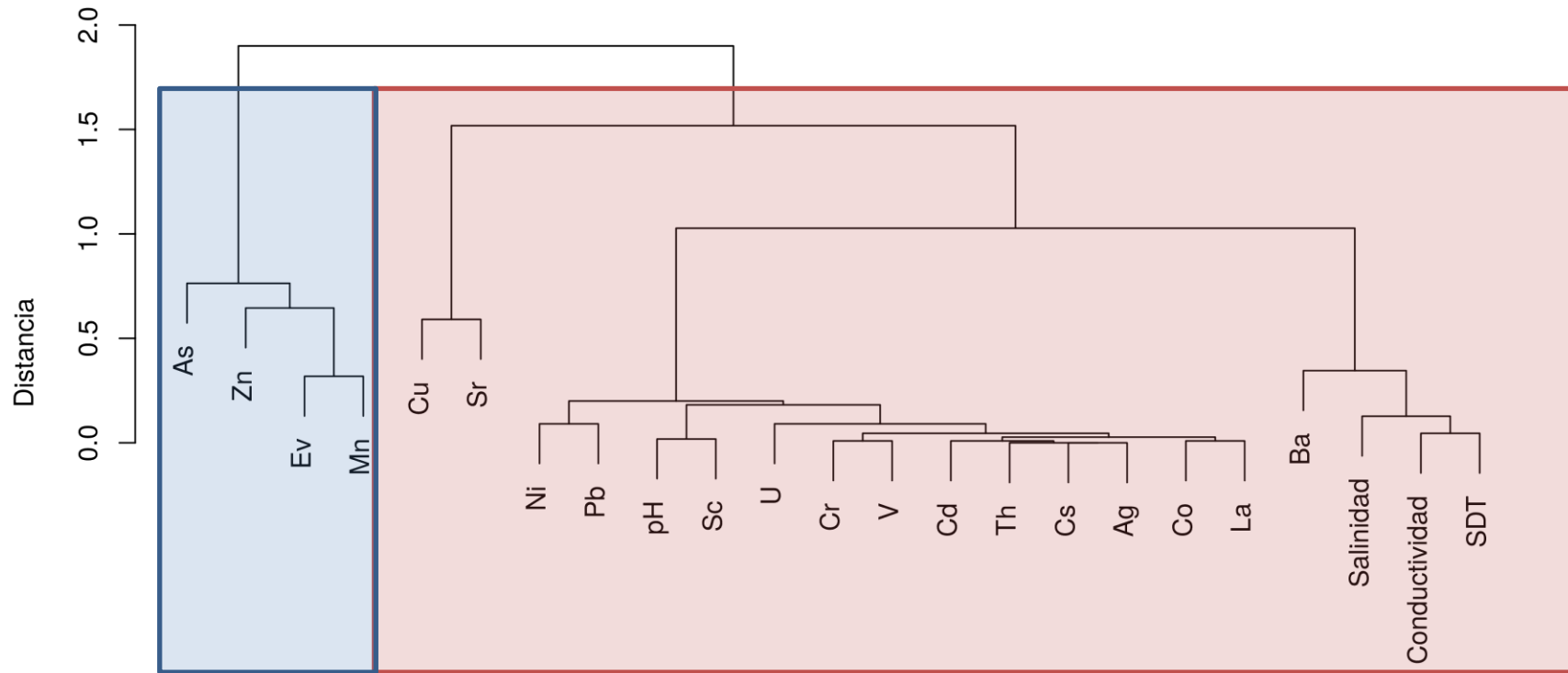


Figura 2-8 Dendrograma de los factores analizados para aguas superficiales (AS), usando correlaciones de Spearman.

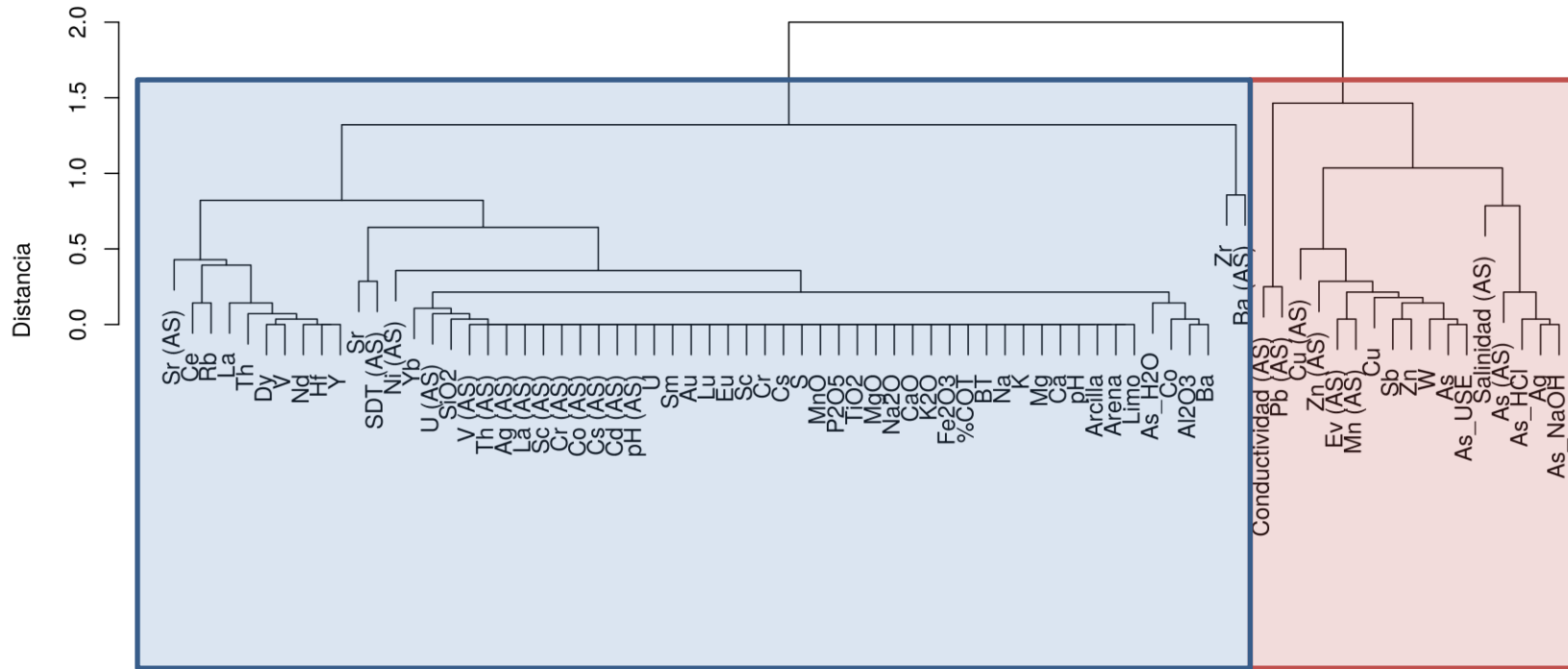


Figura 2-9 Dendrograma de los factores analizadas para sedimentos (Se) y aguas superficiales (AS), usando correlaciones de Spearman.

2.3.3 Análisis por componentes principales (ACP)

Dentro de lo observado hasta ahora, se puede concluir que existe una relación entre altas concentraciones de Arsénico y otros elementos asociados a la minería de oro como Au, Ag, W, Sb y W, con la cercanía a las zonas de explotación de este metal. Además se identificaron tres tipos de interacción del arsénico con los sedimentos a lo largo del río Suratá: en forma de complejos altamente lábiles ($As_{(H_2O)}$), complejos adsorbidos ($As_{(HCl)}$ y $As_{(NaOH)}$) y en minerales estequiométricos y/o arsenicosos (As y $As_{(USE)}$).

Con el fin de confirmar y extraer la mayor cantidad de información de la totalidad de resultados obtenidos se empleó el Análisis por Componentes Principales con rotación varimax (ACP-var). Para esto, se eligieron las mismas muestras empleadas para el análisis de correlaciones (los sedimentos activos a lo largo del río Suratá), no solamente para obtener información complementaria entre las dos metodologías estadísticas, sino para determinar cuáles son los procesos responsables de las elevadas concentraciones de arsénico a lo largo del río Suratá.

Tabla 2-4 Factores con magnitud de *loadings* superior a 0,60 para cada CP en sedimentos, aguas superficiales, y la combinación de los dos. Las dos rayas verticales (||) Dividen los factores de contribución positiva (derecha) de los de contribución negativa (izquierda)

CP	Sedimentos	Agua Superficial	Sedimentos y Agua superficial
1	Limo, Mg, K, %COT, K ₂ O, TiO ₂ , MnO, S, Sb, As, Zn, Zr, Co, Sr, Au, Ag, W, As _(UE) , As _(H₂O) , As _(HCl) , As _(NaOH) . Arena, Arcilla, pH, Ca, Na, BT, CaO, P ₂ O ₅ , Cr, Sc, Y, V.	Cond, SDT, Sal, Ev, As(AS), Cs(AS), Zn(AS), Co(AS), Cu(AS), Cr(AS), Mn(AS), Ni(AS), Pb(AS), U(AS) pH, V(AS).	Limo, Mg, K, %COT, K ₂ O, TiO ₂ , MnO, Sb, As, Zn, Zr, Co, Sr, Au, Ag, W, As _(UE) , As _(H₂O) , As _(HCl) , As _(NaOH) , Cond, Sal(AS), Ev(AS), As(AS), Ba(AS), Zn(AS), Co(AS), Cr(AS), La(AS), Ni(AS), Pb(AS). Arena, Arcilla, pH, Ca, Na, BT, CaO, P ₂ O ₅ , Cr, Sc, Y, V, pH(AS), Sc(AS), V(AS).
2	Na ₂ O, MgO, Cs, Dy, Eu, Hf, Yb, Y, La, Lu, Nd, Sm, Th SiO ₂ , Ba, Zn, Zr, Cu, Sr, Rb, U.	Cd(AS), Cu(AS), Sr(AS), La(AS), Th(AS).	MgO, Cs, Dy, Eu, Hf, Yb, Y, La, Lu, Nd, Sm, Th. SiO ₂ , Ba, Zn, Zr, Cu, Sr, Rb, U, Cd(AS), Cu(AS), La(AS), Th(AS).
3	Al ₂ O ₃ , CaO. Fe ₂ O ₃ , K ₂ O, MnO, S.	Sc(AS). Ba(AS), Ag(AS).	Al ₂ O ₃ , CaO, Na ₂ O, MgO, P ₂ O ₅ . Fe ₂ O ₃ , K ₂ O, MnO, S, Cond(AS), SDT(AS), Cs(AS), Zn(AS), Co(AS), Cu(AS), Cr(AS), Mn(AS), Pb(AS), U(AS).
%var	CP1= 48,1; CP2= 31,0; CP3= 13,8; Total= 92,9	CP1=61,8; CP2=19,3; CP3=13,6; Total= 94,7	CP1= 41,8; CP2= 27,1; CP3= 24,1 Total=93,0

Se escogió un número de componentes principales (CPs) que expliquen un porcentaje superior al 90% de la variabilidad del sistema. La Tabla 2-4 muestra los factores que afectan significativamente a cada CP, y a su vez cada grupo de factores, fue dividido en dos categorías opuestas: de contribución positiva y de contribución negativa.

El ACP-var para los sedimentos, mostró información similar a la obtenida por el análisis de correlaciones (AC), sobre todo en cuanto a la asociación de elementos con alto grado de enriquecimiento, sugiriendo que estos elementos tienen un origen común. Además, mostró nuevas asociaciones que permiten determinar posibles fuentes y formas en las que ocurre este enriquecimiento.

2.3.3.1 Análisis de Loadings

En primer lugar, dentro de los factores asociadas en el primer componente (CP1), la contribución del limo (0,906), sugiere que la variabilidad de este componente está ligada a la distribución en el tamaño de las partículas que componen el sedimento. Una posible razón de este fenómeno es el transporte de material fragmentado en el proceso de extracción del oro ubicado río arriba. La alta contribución de arsénico a este componente (0,892), sustenta esta hipótesis, pues elevadas concentraciones de este metaloide están relacionadas a la presencia de minerales estequiométricos y/o arsenicosos característicos de los yacimientos de oro [97].

En cuanto a aguas superficiales, se observó una contribución positiva (0,625) de la conductividad y la Salinidad (0,776), que refleja una alta concentración de iones, que en conjunto la contribución negativa del pH (-0,707), sugiere un posible contacto con lixiviados ácidos[111]. En este resultado se evidencia, que aunque individualmente un factor como pH no muestre un fenómeno físico esperado en la zona como lo es la influencia de los lixiviados mineros en la composición del agua superficial, un análisis multivariado como ACP-var permite revelar esta información.

El ACP-var conjunto para las dos matrices, mostró la misma información que se obtuvo para cada matriz en el análisis individual. En síntesis, el primer componente fue asociado a la acumulación de minerales relacionados al oro, transportados aguas abajo, desde las minas, hasta los puntos distribuidos a lo largo del río Suratá.

El CP2, relacionó principalmente tierras raras, Dy, Eu, Yb, La, Lu, Nd, Sm y Th, cuya distribución se considera dependiente de procesos litogénicos o de erosión natural al no estar relacionados directamente con ningún yacimiento minero particular. Además, se observó una contribución negativa por parte de algunos elementos con un alto índice de enriquecimiento (Cu, Zn y Zr), esto en conjunto con la relación con tierras raras, puede indicar la presencia de una fuente de enriquecimientos natural de estos elementos.

El CP3 muestra la contribución de algunos elementos mayoritarios asociados a procesos de regulación de elementos en el sedimento. La relación entre algunos de estos elementos, Fe_2O_3 , MnO, K_2O y S con elementos algunos elementos traza en agua superficial como Pb, Cr, Zn, Cu y U presentes en los yacimientos mineros identificados en la zona[96-98], sugiere que este componente da cuenta de algunos procesos de disolución del material independiente al asociado al CP1.

2.3.3.2 Análisis de Scores

La Figura 2-10 que relaciona los *scores* de los dos primeros componentes, muestra que los valores del primer componente permiten separar los sedimentos por concentración de elementos contaminantes o por cercanía a los sitios de extracción minera. Los gráficos de *scores* tanto para Sedimentos (a) como para agua superficial (b) muestran tendencias prácticamente iguales, aun cuando los factores analizados en cada caso fueron independientes. Sin embargo, el valor de *scores* para los puntos 2 y 3 se invirtió entre las dos matrices. Esto sugiere que si bien el CP1 da cuenta del mismo fenómeno de enriquecimiento, la forma en que este afecta las dos matrices en los puntos cercanos a los sitios de extracción minera es diferente.

El var-ACP para las dos matrices combinadas mostró estar más influenciado por el sedimento que por el agua superficial. Esto puede ser atribuido al número de factores empleados, ya que entre más grande sea, mayor influencia va a tener sobre el resultado del var-ACP. A partir del CP2 se puede separar el punto 8 del resto lo que resulta sorprendente, dado que este componente fue asociado a procesos erosión natural y como se mencionó anteriormente las muestras fueron tomadas en una misma unidad geológica.

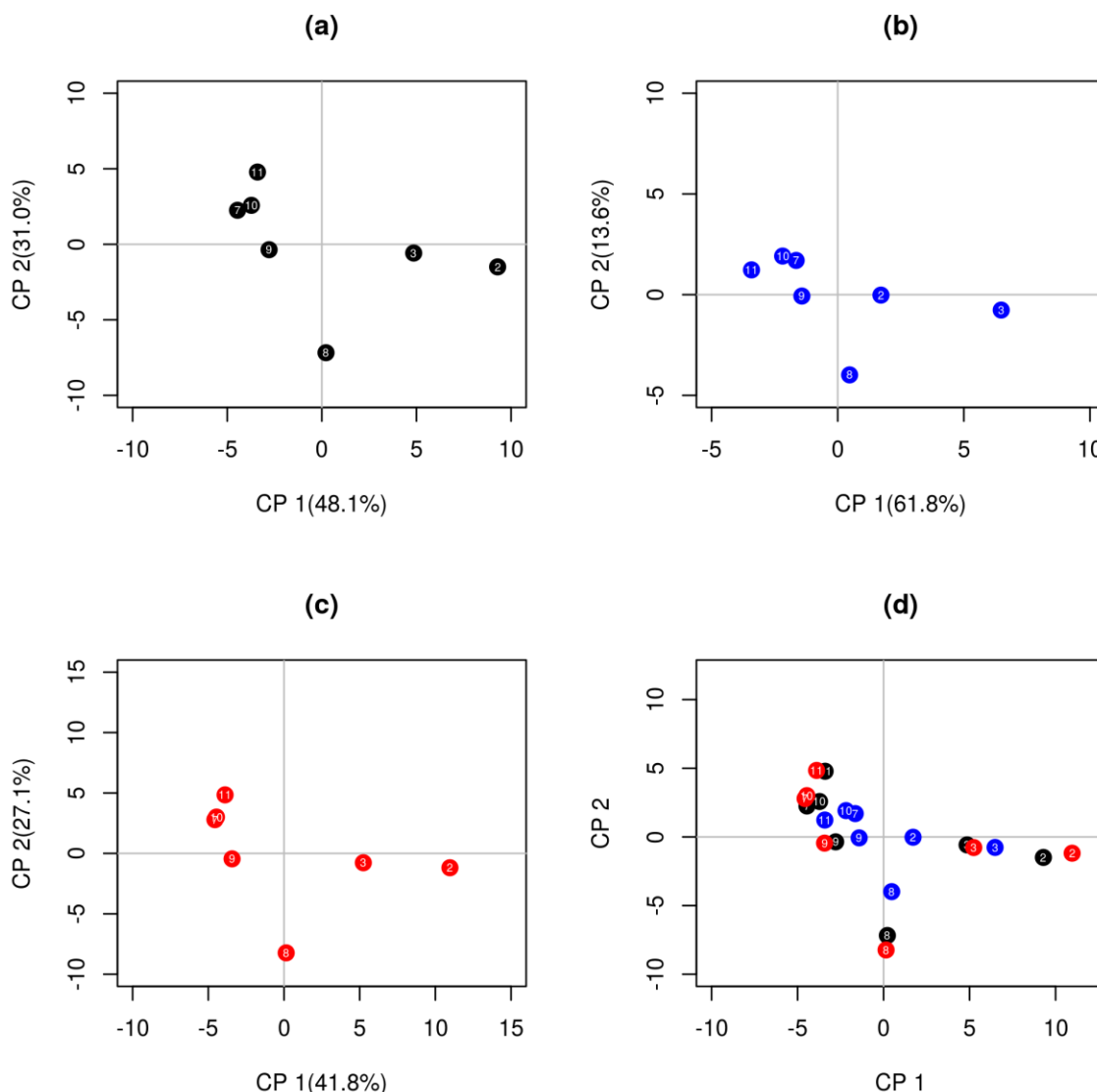


Figura 2-10 Gráfica de scores de los componentes CP1 vs CP2 para (a) sedimentos, (b) aguas superficiales, (c) combinación de las 2 matrices y (d) todas las anteriores.

La Figura 2-11 muestra una alta correlación entre el CP1 y el CP3. Sin embargo la diferencia entre los puntos 2 y 3 implica una marcada diferencia entre los dos. A partir del análisis de loadings para el CP1 y CP3 se puede decir que la diferencia entre los dos sitios de muestreo radica en la calidad de los residuos generados por las minas cercanas a cada punto. Algo que confirma este hecho es la diferencia significativa entre los puntos cercanos a los sitios de extracción minera: En el punto 6, aguas arriba del punto 3 se

observó una concentración de iones (conductividad $1575 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) mayor a la encontrada en el punto 1 ($250 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) aguas arriba del punto 2.

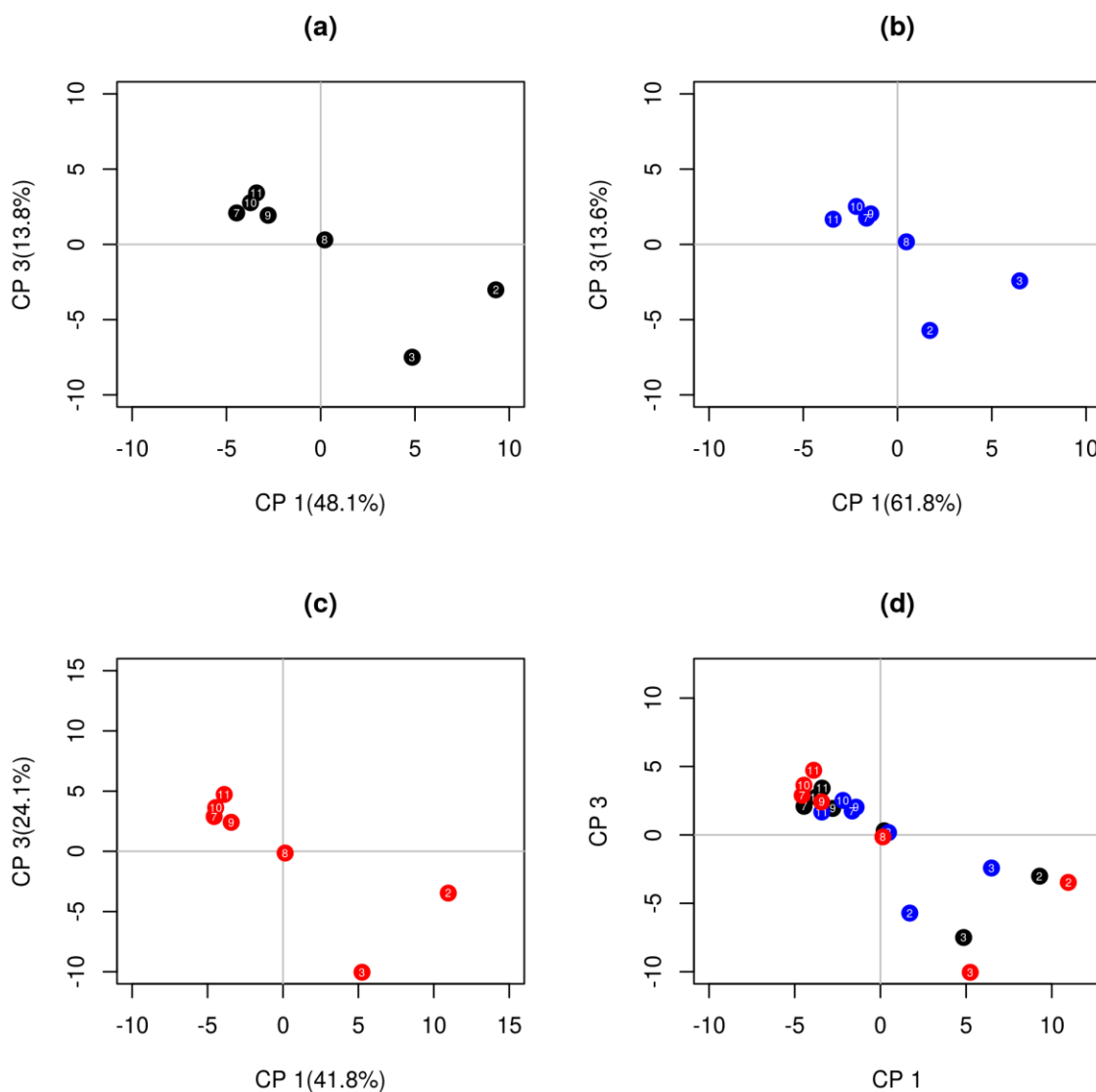


Figura 2-11. Gráfica de scores de los componentes CP1 vs CP3 para (a) sedimentos, (b) aguas superficiales, (c) combinación de las 2 matrices y (d) todas las anteriores.

La relación entre los factores determinados en los sedimentos muestreados a lo largo del río suratá, son de vital importancia para la interpretación de los procesos de enriquecimiento evidenciados por el AC y el ACP-var. Por este motivo, y para interpretar los resultados desde la matriz de factores original, se emplearon factores relacionados a la adsorción (Fe_2O_3 y Al_2O_3) y mineralogía (As, S, Sb y W) de arsénico, y al proceso de

extracción minera (pH, arena, Au, Ag, Cu y Zn). En la figura 1-12 se muestra los gráficos de radar para estos factores en los sedimentos activos muestreados a lo largo del río Suratá (punto 2, 3, 8, 9 y 10).

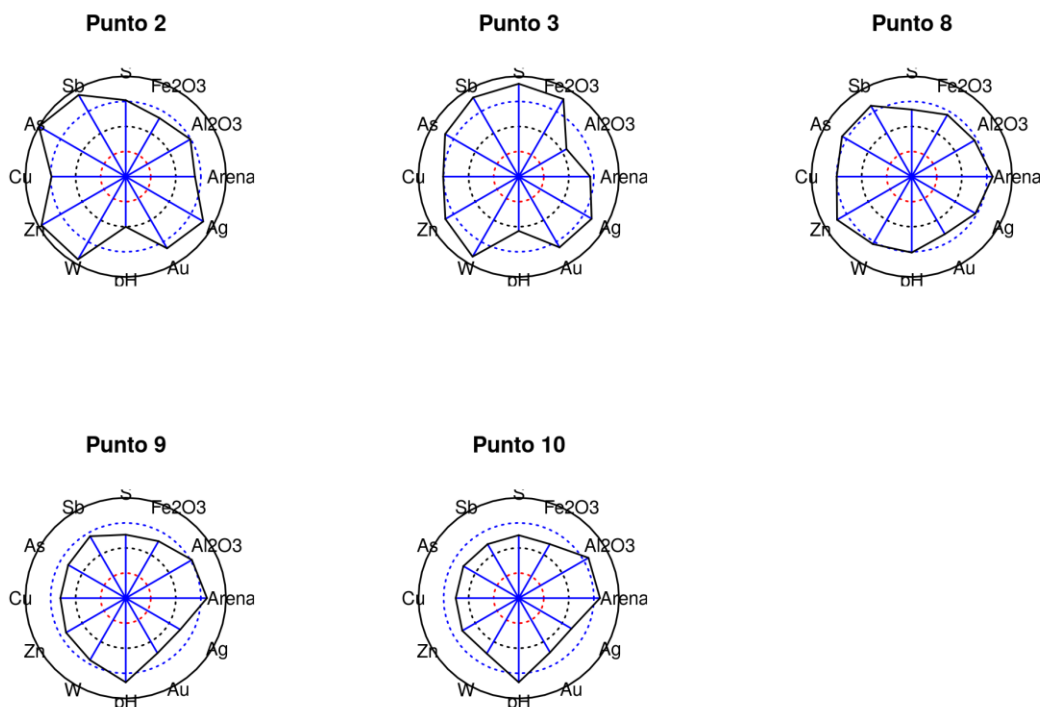


Figura 2-12 Gráficos de radar para los puntos a lo largo del Río Suratá.

La ventaja de emplear este tipo de gráficos en la comprensión del proceso de enriquecimiento, es que permite comparar rápidamente variables decisivas que de otro modo no pueden ser visualizadas. En este caso se evidencia una disminución del pH y un aumento en la concentración de los elementos relacionados con la extracción de oro (Ag, As, Au, Cu, S, Sb, W y Zn) a medida que la muestra se aproxima a los sitios de extracción minera.

Sin embargo, también se observó un comportamiento fuera de la tendencia para el punto 3, el cual registró una mayor proporción de azufre (S), óxidos de hierro (Fe_2O_3) y óxidos de aluminio (Al_2O_3), en comparación con los otros puntos. Esto ratifica la posibilidad de una forma diferente de transporte de elementos contaminantes de provenientes del punto 6 “La baja” [112] (punto 5 y 6).

2.4 Conclusiones

- I. Se encontró un elevado factor de enriquecimiento e índice de geoacumulación mostrando una **contaminación moderada a extrema** de Ag, As, Au, Sb, W, Zn y Zr con un valor máximo de arsénico en los puntos 2 (484 mg.kg^{-1}) y 3 (282 mg.kg^{-1}), tomados en el río Suratá.
- II. Se identificaron tres procesos que regulan la concentración de arsénico, a partir del análisis de conglomerados jerarquizados (ACJ). Uno relacionado a la mineralogía del arsénico en la zona, y otros dos ligados a complejos superficiales con oxihidroxidos de hierro y aluminio con el sedimento ($\text{As}_{(\text{H}_2\text{O})}$, $\text{As}_{(\text{HCl})}$ y $\text{As}_{(\text{NaOH})}$).
- III. El análisis de Componentes Principales con rotación varimax (ACP-var), mostró distintas fuentes de variación, basadas principalmente en la actividad minera (PC1 y PC3). Sin embargo, se evidenció una fuente de variación presuntamente natural de elementos con elevados niveles de enriquecimiento Cu, Zn y Zr (PC2).
- IV. En comparación con el análisis univariado empleado en el trabajo de referencia[44], el análisis multivariado reveló información sobre los tipos de interacción entre los sedimentos analizados y el arsénico, permitiendo plantear nuevas hipótesis sobre las posibles fuentes y formas de enriquecimiento, no solamente de arsénico sino de otros elementos contaminantes como Cu y Zn que constituyen el paso fundamental en la planeación eficiente y pertinente de futuros estudios.

2.5 Anexos

2.5.1 Anexo 1: Información del muestreo.

Tabla 2-5. Descripción y ubicación de las aguas superficiales muestreadas [58].

Muestra	Tipo de muestra	Ubicación	lon	lat
1	Agua superficial	Quebrada Agua Blanca afluente del Río Vetas, aguas abajo de la mina La Providencia (municipio de Vetas)	-72,8761	7,319185
2	Agua superficial	Río Vetas, vía Vetas-California (municipio de Vetas)	-72,8771	7,318853
3	Agua superficial	Río Vetas a la altura de La Baja (municipio de California)	-72,9369	7,347496
4	Agua superficial	Quebrada La Baja, aguas arriba del casco urbano (municipio de California)	-72,9334	7,354018
6	Agua superficial	Afluente de la Quebrada La Baja aguas abajo del Proyecto Angostura (California)	-72,9166	7,368083
7	Agua superficial	Río Suratá, vía Suratá-Matanza (municipio de Suratá)	-72,9829	7,361606
8	Agua superficial	Río Suratá, vía Matanza-Gualmal (municipio de Matanza)	-73,0187	7,32656
9	Agua superficial	Río Suratá a la altura de El Aburrido (municipio de Matanza)	-73,0335	7,277982
10	Agua superficial	Río Suratá a la altura de la vereda Rosa Blanca (municipio de Bucaramanga)	-73,0778	7,189176
11	Agua superficial	Río Charta, vía Charta-El Volcán (municipio de Charta)	-72,967	7,278502
12	Agua superficial	Quebrada Los Ranchos a la altura de El Mortiño, en la vía Berlín-Vetas (municipio de Vetas)	-72,8941	7,295186

Tabla 2-6. Descripción y ubicación de los suelos/sedimentos muestreados.

Muestra	Tipo de Muestra	Ubicación	lon	lat
1	Suelo Minero	Suelo minero, vía Vetas-California (municipio de Vetas)	-72,8761	7,319185
2	Sedimento activo	Río Vetas, vía Vetas-California (municipio de Vetas)	-72,8771	7,318853
3	Sedimento activo	Río Vetas a la altura de La Baja (municipio de California)	-72,9369	7,347496
5	Suelo minero	Suelo minero. <i>La baja</i> , proyecto Angostura (municipio de California)	-72,967	7,278502
6	Suelo minero	Suelo minero. <i>La baja</i> , proyecto Angostura (municipio de California)	-73,0778	7,189176
7	Sedimento activo	Río Suratá, vía Suratá-Matanza (municipio de Suratá)	-72,9187	7,365138
8	Sedimento activo	Río Suratá, vía Matanza-Gualmal (municipio de Matanza)	-72,9166	7,368083
9	Sedimento activo	Río Suratá a la altura de El Aburrido (municipio de Matanza)	-72,9829	7,361606
10	Sedimento activo	Río Suratá a la altura de la vereda Rosa Blanca (municipio de Bucaramanga)	-73,0187	7,32656
11	Sedimento activo	Río Charta, vía Charta-El Volcán (municipio de Charta)	-73,0335	7,277982

2.5.2 Anexo 2: Resultados obtenidos para AS y Su/Se

Tabla 2-7 Resultados propiedades fisicoquímicas y elementos traza para las aguas superficiales (AS).

muestras		1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12
pH	-	7,40	7,13	7,09	7,59	6,38	7,62	7,52	7,64	7,84	7,85	7,32
Conductividad	$\mu\text{S.cm}^{-1}$	529,2	250,4	297,3	296,1	1575,2	163,4	201,1	160,8	152,6	140,9	34,8
STD	mg.l^{-1}	371,2	155,1	169,2	214,3	1099,1	101,3	140	122,3	116,5	97	24,5
Salinidad	mg.l^{-1}	261,3	184,7	199,2	194,4	782,1	59,6	99,9	82,4	78,3	71	17,4
Eh	mV	-32	4	11	-61	54	-63	-57	-65	-79	-85	-45
As	$\mu\text{g.l}^{-1}$	8,2	51,9	28,1	23,6	52,3	1,1	8,2	2,8	0,6	0,8	0,7
Ba		25,5	47,1	21,9	44,3	26,8	14,6	27,8	18,1	13,6	24,3	11,2
Cd		1,2	0,5	0,7	3,8	76,2	0,2	1,3	0,5	0,1	0,2	0,1
Cs		0,8	0,3	0,4	0,3	1,6	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
Zn		288,2	253,3	388,9	126,8	1979,6	19,2	91,1	45,4	21,2	24,1	18,1
Co		13,7	5,9	7,4	8,5	72,8	0,4	2,5	0,7	0,2	0,2	0,4
Cu		59,8	35,3	47,1	589,3	7217,9	10,2	41,3	19,4	6,7	5,5	6,1
Cr		1,9	4,5	7,1	3,1	6,8	1,8	2,4	1,2	1,1	1,1	1,7
Sc		7,6	2,3	4,3	7,5	17,2	3,7	4,4	3,9	3,5	3,5	3,7
Sr		295,5	21,8	55,8	518,7	1477,8	34,3	142,9	82,6	37,4	95,4	23,9
La		1,1	1,5	0,9	0,9	1	0,6	1,2	0,4	0,2	0,2	0,6
Mn		3039	469,1	886,8	705,1	3987	65,1	226,2	82,8	27,3	23,9	78,6
Ni		35,2	15,9	13,6	16,2	119,1	2,2	11,1	3,6	2,1	3,4	1,8
Ag		1,3	0,2	0,1	0,7	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,3	0,2
Pb		11,7	14,9	23,3	7,4	3,1	2,6	7,4	3,5	1,4	2,5	3,5
Th		0,2	0,1	0,1	0,5	0,8	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
U		5,2	3,9	3,1	12,2	94,4	0,9	4,8	1,7	0,5	0,9	0,1
V		0,2	1,2	2,4	2,1	2,1	1,1	1,4	0,8	0,6	0,7	1,3

Tabla 2-8. Resultados propiedades fisicoquímicas, elementos mayoritarios y elementos traza para Suelos y Sedimentos (Su/Se).

Muestra	Unidades	1	2	3	5	6	7	8	9	10	11	
Arena		93,6	88,2	89,7	76,1	75,3	96,6	96,2	96,4	96,4	96,2	
Limo	%	4,3	10,0	8,4	16,4	17,1	1,2	1,4	1,4	1,4	1,4	
Arcilla		2,1	1,8	1,9	7,5	7,6	2,2	2,4	2,2	2,2	2,4	
pH	-	6,1	4,3	4,7	6,6	6,2	7,4	6,8	7,6	7,6	7,5	
Ca	meq.kg ⁻¹	1,50	0,57	0,58	0,33	0,36	1,81	1,73	1,83	1,71	1,72	
Mg		0,18	0,35	0,33	0,11	0,12	0,16	0,17	0,16	0,16	0,17	
K		0,20	0,25	0,24	0,16	0,16	0,14	0,17	0,18	0,17	0,18	
Na		0,10	0,08	0,08	0,06	0,06	0,18	0,17	0,14	0,12	0,12	
BT		2,0	1,3	1,2	0,7	0,7	2,3	2,2	2,3	2,2	2,2	
%COT		0,10	0,18	0,17	0,32	0,25	0,10	0,08	0,08	0,07	0,08	
SiO ₂	%	69,66	72,02	71,42	71,47	74,12	71,25	73,6	72,36	71,68	71,56	
Al ₂ O ₃		16,62	13,64	10,32	10,61	10,79	14,34	13,27	13,94	14,64	14,74	
Fe ₂ O ₃		3,55	3,75	6,34	5,42	7,15	3,23	4,2	3,53	3,13	3,18	
K ₂ O		3,56	5,61	7,33	4,13	4,38	2,72	4,2	2,93	2,73	2,82	
CaO		2,13	1,17	0,64	0,36	0,25	1,83	1,32	1,51	1,63	1,75	
Na ₂ O		2,63	0,76	0,41	0,71	0,58	1,85	0,84	1,41	1,78	1,92	
MgO		1,14	0,98	0,52	0,76	0,56	1,82	0,85	1,52	1,77	1,86	
TiO ₂		0,4	0,69	0,68	0,71	0,68	0,43	0,58	0,47	0,44	0,62	
P ₂ O ₅		0,04	0,16	0,12	0,15	0,13	0,28	0,24	0,26	0,27	0,28	
MnO		0,09	0,13	0,16	0,16	0,18	0,08	0,09	0,08	0,08	0,08	
S		0,04	0,80	1,75	1,36	1,50	0,02	0,26	0,05	0,02	0,02	
Sb		mg.kg ⁻¹	1,4	31	28,2	6,1	6,8	0,9	19,1	9,2	0,5	0,3
As			10,0	484,0	282,0	62,2	70,4	2,4	222,0	35,6	2,1	2,2
Ba	393		830	727	976	1040	723	990	725	705	696	
Cs	2,9		5,2	5,6	7,2	6,5	6,2	5,1	6,1	6,2	6,3	
Ce	152,8		131,5	122,4	197,4	195,1	106,3	102,2	202,1	186,5	188,3	
Zn	86,5		594,0	417,0	143,2	168,3	142,7	438,0	194,2	141,1	133,0	
Zr	140		211	197	458	473	115	182	142	111	113	
Co	16,2		37,0	28,3	13,6	14,8	18,4	21,3	18,5	17,4	17,9	
Cu	31,9		158,6	172,4	341,0	360,8	38,1	167,3	69,5	45,6	38,4	
Cr	134,7		78,3	83,1	29,1	28,2	85,3	88,2	85,1	84,9	84,7	
Dy	12,6		8,1	8,8	7,1	6,9	9,3	6,2	7,6	11,6	16,8	
Sc	23,0		16,2	17,3	18,5	18	18,1	17,5	18,2	18,4	18,4	
Sr	288		390	372	315	340	246	350	267	237	230	
Eu	1,5		1,8	1,9	1,9	1,8	2,4	1,5	1,9	2,2	2,5	
Hf	18,4		20,7	21,9	6,4	5,6	23,4	14,2	17,8	23,2	31,2	
Yb	8,1		4,5	4,9	3,9	3,5	7,4	3,8	4,8	6,2	7,9	
Y	62,3		53,4	57,4	45,6	43,2	72,7	59,2	68,2	71,1	74,5	
La	71,4		62,6	65,8	54,2	51,8	73,4	48	82,3	90,7	95,1	
Lu	1,5		1,0	1,2	0,7	0,7	1,4	0,8	1,1	1,1	1,1	
Nd	58,6		55,3	56,7	76,3	74,8	75,3	44,4	52,3	63,5	89,1	
Au	0,1		9,2	8,7	12,1	13,4	0,4	1,7	0,4	0,4	0,4	
Ag	2,40		38,70	31,60	32,30	33,40	0,02	17,40	3,10	0,02	0,02	
Rb	137,0		184,0	171,0	235,0	237,0	122,1	189	162,3	125,7	131,0	
Sm	14,0		11,1	12,3	10,2	11,7	15,1	9,2	12,3	15,6	16,3	
Th	41,4		23,3	19,2	25,6	22,1	24,1	17,7	28,3	28,6	33,2	
W	4,4		175,3	158,2	27,6	31,2	2,4	81,7	48,3	8,7	2,7	
U	7,9		9,1	8,5	17,0	17,5	8,1	9,9	7,9	7,6	7,8	
V	102,1		116,3	128,7	194,4	181	158,2	154,2	158,3	161,3	161,1	
As _(USE)			9,07	419,41	227,28	52,58	60,40	1,82	187,11	29,67	1,59	1,71
As _(H2O)			0,24	14,71	8,34	2,27	2,68	0,01	3,35	0,24	0,01	0,01
As _(HCl)			1,23	54,18	36,41	8,88	10,04	0,08	26,52	2,99	0,08	0,07
As _(NaOH)		1,18	86,7	51,25	13,19	14,05	0,05	20,74	2,20	0,05	0,04	

Referencias

1. Marrugo, V. and F. Yañez, *Externalidades y Compensaciones: El Caso de la Minería del Oro en la Cuenca del Río Suratá*. 2004. p. 1-119.
2. Pinedo-Hernandez, J., J. Marrugo-Negrete, and S. Diez, *Speciation and bioavailability of mercury in sediments impacted by gold mining in Colombia*. Chemosphere, 2015. **119**: p. 1289-95.
3. Cordy, P., et al., *Mercury contamination from artisanal gold mining in Antioquia, Colombia: The world's highest per capita mercury pollution*. Sci Total Environ, 2011. **410-411**: p. 154-60.
4. Paula, J.F.R., R.E.S. Froes-Silva, and V.S.T. Ciminelli, *Arsenic determination in complex mining residues by ICP OES after ultrasonic extraction*. Microchemical Journal, 2012. **104**: p. 12-16.
5. WHO-IARC, *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans VOLUME 84 Some Drinking-water Disinfectants and Contaminants , including Arsenic Some Drinking-water Disinfectants and*. Vol. 84. 2004.
6. Alonso, D.L., et al., *Environmental occurrence of arsenic in Colombia: a review*. Environ Pollut, 2014. **186**: p. 272-81.
7. Deschamps, E. and J. Matschullat, *Arsenic : natural and anthropogenic*. CRC Press. Vol. 4. 2011: Taylor & Fancis Group, LLC.
8. Zhou, J.a.b., et al., *Application of multivariate statistical approach to identify heavy metal sources in sediment and waters: A case study in Yangzhong, China*. Environmental Geology, 2008. **54**(2): p. 373-380.
9. Mostert, M.M.R., G.a. Ayoko, and S. Kokot, *Application of chemometrics to analysis of soil pollutants*. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2010. **29**(5): p. 430-445.
10. Lin, Y.C., et al., *Multivariate analysis of heavy metal contaminations in seawater and sediments from a heavily industrialized harbor in Southern Taiwan*. Marine Pollution Bulletin, 2013. **76**(1-2): p. 266-275.
11. Filgueiras, A.V., et al., *Comparison of ultrasound-assisted extraction and microwave-assisted digestion for determination of magnesium , manganese and zinc in plant samples by flame atomic absorption spectrometry*. Talanta, 2000. **53**: p. 433-441.
12. Martínez, J.L.C., *Ultrasound in chemistry*. 1 ed. 2008, Monte de Caparica, Portugal: Wiley-VCH. 1-148.
13. Callao, M.P., *Multivariate experimental design in environmental analysis*. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2014. **62**: p. 86-92.
14. IDEAM, *Laboratorios acreditados por el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales, IDEAM, bajo los lineamientos NTC-ISO/IEC 17025 "Requisitos Generales de Competencia de Laboratorios de Ensayo y Calibración", y según lo estipulado en el Decreto 1600 de 1994 y la Resolución No. 0176 del 31*

- de octubre de 2003 que derogó las resoluciones No. 0059 de 2000 y 0079 de 2002. 2015, Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial. p. 393.
15. EPA, *Method 3050B: Acid Digestion of Sediments, Sludges, and soils*. 1996. p. 1-12.
 16. EPA, *Method 3051A: Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils*. 2007(February): p. 1-30.
 17. EPA, *Method 3550C: Ultrasonic Extraction*. 2007(February): p. 1-17.
 18. Ramić, M., et al., *Modeling and optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenolic compounds from Aronia melanocarpa by-products from filter-tea factory*. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2015. **23**: p. 360-368.
 19. Moorthy, I.G., et al., *Response surface optimization of ultrasound assisted extraction of pectin from pomegranate peel*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015. **72**: p. 1323-1328.
 20. Maran, J.P. and B. Priya, *Ultrasound-assisted extraction of pectin from sisal waste*. *Carbohydrate Polymers*, 2015. **115**: p. 732-738.
 21. Deng, J., X. Feng, and X. Qiu, *Extraction of heavy metal from sewage sludge using ultrasound-assisted nitric acid*. *Chemical Engineering Journal*, 2009. **152**(1): p. 177-182.
 22. Pumure, I., J.J. Renton, and R.B. Smart, *The interstitial location of selenium and arsenic in rocks associated with coal mining using ultrasound extractions and principal component analysis (PCA)*. *Journal of hazardous materials*, 2011. **198**: p. 151-8.
 23. Arain, M.B., et al., *Speciation of heavy metals in sediment by conventional, ultrasound and microwave assisted single extraction methods: a comparison with modified sequential extraction procedure*. *Journal of hazardous materials*, 2008. **154**(1-3): p. 998-1006.
 24. De La Calle, I., et al., *Ultrasound-assisted single extraction tests for rapid assessment of metal extractability from soils by total reflection X-ray fluorescence*. *Journal of hazardous materials*, 2013. **260**: p. 202-9.
 25. Koch, C. and M. Jüschke, *Model processes and cavitation indicators for a quantitative description of an ultrasonic cleaning vessel: Part I - Experimental results*. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2012. **19**(4): p. 796-802.
 26. Koch, C. and M. Jüschke, *Model processes and cavitation indicators for a quantitative description of an ultrasonic cleaning vessel: Part II - Multivariate data analysis*. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2012. **19**(4): p. 796-802.
 27. Nascentes, C.C., et al., *Use of Ultrasonic Baths for Analytical Applications: A New Approach for Optimisation Conditions*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2001. **12**(1): p. 57-63.
 28. Welch, A.H. and K.G. Stollenwerk, *Arsenic in Ground Water*. 2003.
 29. Hudson-Edwards, K.a., S.L. Houghton, and a. Osborn, *Extraction and analysis of arsenic in soils and sediments*. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2004. **23**(10-11): p. 745-752.
 30. EPA, *Method 7063: Arsenic in Aqueous Samples and Extracts by Anodic Stripping Voltametry (ASV)*. EPA method 7063, 1996(December): p. 1-9.
 31. D'Ulivo, A., *Mechanism of generation of volatile species by aqueous boranes*. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2010. **65**(5): p. 360-375.
 32. Pergantis, S.A., et al., *Investigation of arsine-generating reactions using deuterium-labeled reagents and mass spectrometry*. 1997. **44**: p. 1941-1947.

33. Wentzell, P.D., *Response Surfaces for the Determination of Arsenic(iii) by Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry and Flow Injection*. 1994. **119**(June): p. 1403-1411.
34. EPA, *Method 1632: Determination of Inorganic Arsenic by Hydride Generation Flame Atomic Absorption*. EPA method 1996.
35. Fedorov, V.a., et al., *Thermal decomposition of arsine, a lewisite detoxification by-product*. *Inorganic Materials*, 2010. **46**(3): p. 276-281.
36. Fendorf, S., et al., *Arsenic Chemistry in Soils and Sediments*. 1 ed. Vol. 34. 2010: Elsevier B.V. 357-378.
37. Bhattacharya, P.a., et al., *Arsenic in the environment: Biology and Chemistry*. *Science of the Total Environment*, 2007. **379**(2-3): p. 109-120.
38. Kreidie, N., et al., *An integrated geochemical and mineralogical approach for the evaluation of arsenic mobility in mining soils*. *Journal of Soils Sediments*, 2011. **11**: p. 37-52.
39. Craw, D., *Potential anthropogenic mobilisation of mercury and arsenic from soils on mineralised rocks, Northland, New Zealand*. *Journal of environmental management*, 2005. **74**(3): p. 283-92.
40. Wang, Z.H., et al., *Assessment of metal contamination in surface sediments from Zhelin Bay, the South China Sea*. *Mar Pollut Bull*, 2013. **76**(1-2): p. 383-8.
41. Duker, A.A.a.b., E.J.M.a. Carranza, and M.a. Hale, *Arsenic geochemistry and health*. *Environment International*, 2005. **31**(5): p. 631-641.
42. Moros, J., et al., *Use of reflectance infrared spectroscopy for monitoring the metal content of the estuarine sediments of the Nerbioi-Ibaizabal River (Metropolitan Bilbao, Bay of Biscay, Basque Country)*. *Environmental Science and Technology*, 2009. **43**(24): p. 9314-9320.
43. Koppenaal, J.C.L., E.T. George, and W. David, *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*. Vol. 1. 2010: Elsevier. 56-58.
44. Alonso, D.L., *Determinación de arsénico total y biodisponible en la zona sur-occidental del distrito minero de oro California-Vetas en el Departamento de Santander, Colombia*. 2013. 138.
45. R.E. Bruns, I.S.S.B.d.B., *Statistical Design – Chemometrics*. *Data Handling in Science and Technology*. Vol. 25. 2005: Elsevier.
46. Seifert, E., L. Abramo, and B. Thelin, *Experimental design and optimization*. 1998.
47. Box, G.E.P., S. Hunter, and W. Gordon, *Statistics for experiments: design, innovation and discovery*. 2005: Wiley.
48. Brown, S.D., L.A. Sarabia, and J. Trygg, *Comprehensive Chemometrics Chemical and Biochemical data Analysis*. 2009: Elsevier.
49. Wass, J.A., *First Steps in Experimental Design — The Screening Experiment*.
50. Loukas, Y.L., *A Plackett – Burnam screening design directs the efficient formulation of multicomponent DRV liposomes*. 2001. **26**: p. 255-263.
51. Millins, E., *Statistics for the Quality Control Chemistry Laboratory*. 2003. 1-447.
52. Frankenberger, W.T., *Environmental Chemistry of Arsenic*. 2002, New York: Marcel Dekker. 363.
53. Blanchard, G.J., *Basic Chemometric Techniques in Atomic Spectroscopy, 2(nd) Edition*. Vol. 68. 2014. 246-7.
54. Jena, A., *Recommended Conditions for Analytical Methods - ContrAA in Arsenic*. 2009.
55. Fox, J., *The R Commander: A Basic Statistics Graphical User Interface to R*. *Journal of Statistical Software*, 2005. **14**(9): p. 1-42.

56. Lenth, R.V., *Response-Surface Methods in R, using rsm*. Journal of Statistical Software, 2009. **32**(7): p. 1-17.
57. Wickham, H., *ggplot2 - Elegant Graphics for Data Analysis*. 2009. 222-222.
58. Alonso, D.L. and E. Castillo, *Arsenic availability in a contaminated area of Vetás-California gold mining district - Santander, Colombia*, in *One Century of the Discovery in Latin America (1914-2014)*. 2014. p. 242-244.
59. Duker, A.A., E.J. Carranza, and M. Hale, *Arsenic geochemistry and health*. Environ Int, 2005. **31**(5): p. 631-41.
60. WHO, *International Agency for Research on Cancer. Working Group on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans; IARC monographs on arsenic, metals, fibers and dusts a review of human carcinogens*, ed. I.P.o.C. Safety. Vol. 100 c. 2012, Lyon: International Agency for Research on Cancer. 469.
61. Villaescusa, I. and J.-C. Bollinger, *Arsenic in drinking water: sources, occurrence and health effects (a review)*. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology, 2008. **7**(4): p. 307-323.
62. Guha Mazumder, D.N., *Chronic arsenic toxicity & human health*. Indian Journal of Medical Research, 2008. **128**(4): p. 436-447.
63. Karagas, M.R., et al., *Drinking Water Arsenic Contamination, Skin Lesions, and Malignancies: A Systematic Review of the Global Evidence*. Curr Environ Health Rep, 2015. **2**(1): p. 52-68.
64. Social, M.d.I.P. and v.y.d.t. Ministerio de Ambiente, *Resolución 2115 de 2007*, M.d. Ambiente, Editor. 2007, Capítulo II artículo 5: Colombia. p. 1-23.
65. Water, O.o., *Chemical Contaminant Rules*, in *EPA 815-f-00-016*, E.P. Agency, Editor. 2016, EPA: United States.
66. Singh, R., et al., *Arsenic contamination, consequences and remediation techniques: a review*. Ecotoxicol Environ Saf, 2015. **112**: p. 247-70.
67. Heikens, A., G.M. Panaullah, and A.A. Meharg, *Arsenic behaviour from groundwater and soil to crops: Impacts on agriculture and food safety*. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, Vol 189, 2007. **189**: p. 43-87.
68. Henke, K., *Arsenic environmental chemistry health threats and waste treatment*. 2009.
69. Bolan, N., et al., *Science of the Total Environment Phosphorus – arsenic interactions in variable-charge soils in relation to arsenic mobility and bioavailability*. 2013. **464**: p. 1154-1162.
70. Razo, I.a., et al., *Arsenic and heavy metal pollution of soil, water and sediments in a semi-arid climate mining area in Mexico*. Water, Air, and Soil Pollution, 2004. **152**(1-4): p. 129-152.
71. Rieuwerts, J.S., et al., *Geochemistry and mineralogy of arsenic in mine wastes and stream sediments in a historic metal mining area in the UK*. The Science of the total environment, 2014. **472**: p. 226-34.
72. Goldberg, S. and C.T. Johnston, *Mechanisms of Arsenic Adsorption on Amorphous Oxides Evaluated Using Macroscopic Measurements, Vibrational Spectroscopy, and Surface Complexation Modeling*. Journal of colloid and interface science, 2001. **234**(1): p. 204-216.
73. Cummings, D.E., et al., *Arsenic mobilization by the dissimilatory Fe(III)-reducing bacterium *Shewanella alga* BrY*. Environmental Science and Technology, 1999. **33**(5): p. 723-729.
74. Dudka, S.a. and D.C.b. Adriano, *Environmental impacts of metal ore mining and processing: A review*. Journal of Environmental Quality, 1997. **26**(3): p. 590-602.

75. Vahidnia, A., G.B. Van Der Voet, and F.A. De Wolff, *Arsenic neurotoxicity - A review*. Human and Experimental Toxicology, 2007. **26**(10): p. 823-832.
76. States, J.C., et al., *Arsenic and cardiovascular disease*. Toxicological Sciences, 2009. **107**(2): p. 312-323.
77. Yu, H.S., W.T. Liao, and C.Y. Chai, *Arsenic carcinogenesis in the skin*. J Biomed Sci, 2006. **13**(5): p. 657-66.
78. Bundschuh, J., et al., *One century of arsenic exposure in Latin America: a review of history and occurrence from 14 countries*. Sci Total Environ, 2012. **429**: p. 2-35.
79. Alonso, D.L., et al., *Environmental occurrence of arsenic in Colombia: A review*. Environmental Pollution, 2014. **186**: p. 272-281.
80. Redon, P.-O., et al., *Modelling trace metal background to evaluate anthropogenic contamination in arable soils of south-western France*. Geoderma, 2013. **206**: p. 112-122.
81. Thuong, N.T., et al., *Source discrimination of heavy metals in sediment and water of to Lich River in Hanoi City using multivariate statistical approaches*. Environmental Monitoring and Assessment, 2013. **185**(10): p. 8065-8075.
82. Zhu, X., et al., *Assessment and sources of heavy metals in surface sediments of Miyun Reservoir, Beijing*. Environmental Monitoring and Assessment, 2013. **185**(7): p. 6049-6062.
83. Li, X., et al., *Distribution and speciation of heavy metals in surface sediments from the Yangtze estuary and coastal areas*. Environmental Earth Sciences, 2012: p. 1537-1547.
84. B. Rubio, M.A.N.F.V., *Geochemistry of Major and Trace Elements in Sediments of the Ria de Vigo (NW Spain): an Assessment of Metal Pollution*. Marine Pollution Bulletin, 2000. **40**(11): p. 968-980.
85. Camusso, M.a., S.b. Galassi, and D.a. Vignati, *Assessment of river Po sediment quality by micropollutant analysis*. Water Research, 2002. **36**(10): p. 2491-2504.
86. Liu, J.a.f., et al., *Chronic arsenic poisoning from burning high-arsenic-containing coal in Guizhou, China*. Environmental Health Perspectives, 2002. **110**(2): p. 119-122.
87. Ruiz, F.a., et al., *Stratigraphic sequence, elemental concentrations and heavy metal pollution in Holocene sediments from the Tinto-Odiel Estuary, southwestern Spain*. Environmental Geology, 1998. **34**(4): p. 270-278.
88. Liu, M., et al., *Distribution and ecological assessment of heavy metals in surface sediments of the East Lake, China*. Ecotoxicology (London, England), 2014. **23**(1): p. 92-101.
89. Duan, D., et al., *Contamination trends of trace metals and coupling with algal productivity in sediment cores in Pearl River Delta, South China*. Chemosphere, 2014. **103**: p. 35-43.
90. Burns, W.A.a., et al., *A principal-component and least-squares method for allocating polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment to multiple sources*. Environmental Toxicology and Chemistry, 1997. **16**(6): p. 1119-1131.
91. Zhou, F.a., H.a. Guo, and L.b. Liu, *Quantitative identification and source apportionment of anthropogenic heavy metals in marine sediment of Hong Kong*. Environmental Geology, 2007. **53**(2): p. 295-305.
92. Camusso, M., S. Galassi, and D. Vignati, *Assessment of river Po sediment quality by micropollutant analysis*. Water Research, 2002. **36**(10): p. 2491-2504.
93. Huang, G., et al., *Impact of anthropogenic and natural processes on the evolution of groundwater chemistry in a rapidly urbanized coastal area, South China*. Science of the Total Environment, 2013. **463-464**: p. 209-221.

94. Mantilla Figueroa, L.C., et al., *The magmatic history of the Vetas-California mining district, Santander Massif, Eastern Cordillera, Colombia*. Journal of South American Earth Sciences, 2013. **45**: p. 235-249.
95. Clow, G., *NI 43-101 Report Qualified Persons*. 2013. 1(416).
96. Sim, R. and K.A. Altman, *Canadian National Instrument 43-101 Technical Report for La Bodega Project California-Vetas District Department of Santander, Colombia*. 2010. p. 1-105.
97. Bissig, T., L.C. Mantilla Figueroa, and C.J.R. Hart, *Petrochemistry of igneous rocks of the California-Vetas mining district, Santander, Colombia: Implications for northern Andean tectonics and porphyry Cu (-Mo, Au) metallogeny*. Lithos, 2014. **200-201**(1): p. 355-367.
98. O'Prey, M., *Technical Report on the California Vetás Property*. 2008. p. 1-19.
99. CDMG-CORPONOR, *Marco estratégico para la formulación del plan de manejo ambiental de los ecosistemas compartidos: páramo, subpáramo y bosque alto andino, de la unidad biogeográfica de Santurbán, en el área de jurisdicción de CDMB y CORPONOR*. , C.A.R.p.I.D.d.I.M.d.B.y.C.A.R.d.I.F. Nororiental, Editor. 2002: Cúcuta.
100. Team, R.C., *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. 2015, Viena, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
101. Husson, F., et al., *FactoMineR: Multivariate Exploratory Data Analysis and Data Mining*. 2015.
102. García-Sánchez, a., P. Alonso-Rojo, and F. Santos-Francés, *Distribution and mobility of arsenic in soils of a mining area (Western Spain)*. The Science of the total environment, 2010. **408**(19): p. 4194-201.
103. Grimes, D.J., et al., *Anomalous gold, antimony, arsenic, and tungsten in ground water and alluvium around disseminated gold deposits along the Getchell Trend, Humboldt County, Nevada*. Journal of Geochemical Exploration, 1995. **52**(3): p. 351-371.
104. Abollino, O., et al., *Distribution and mobility of metals in contaminated sites. chemometric investigation of pollutant profiles*. Environ Pollut, 2002. **119**(2): p. 177-93.
105. Van Herreweghe, S., et al., *Solid phase speciation of arsenic by sequential extraction in standard reference materials and industrially contaminated soil samples*. Environ Pollut, 2003. **122**(3): p. 323-42.
106. Goh, K.-H. and T.-T. Lim, *Arsenic fractionation in a fine soil fraction and influence of various anions on its mobility in the subsurface environment*. Applied Geochemistry, 2005. **20**(2): p. 229-239.
107. Li, J., G. Zhang, and Z. Gong, *Mobilization and redistribution of elements in soils developed from extreme weathering basalt on Hainan Island*. Chinese Journal of Geochemistry, 2014. **33**(3): p. 262-271.
108. Ouédraogo, O. and M. Amyot, *Mercury, arsenic and selenium concentrations in water and fish from sub-Saharan semi-arid freshwater reservoirs (Burkina Faso)*. The Science of the total environment, 2013. **444**: p. 243-54.
109. Valiente, M., *Determination of pollution trends in an abandoned mining site by application of a multivariate statistical analysis to heavy metals fractionation using SM & T-SES w*. 2005: p. 29-36.
110. Moreno-jiménez, E., et al., *The fate of arsenic in soils adjacent to an old mine site (Bustarviejo , Spain): mobility and transfer to native flora*. 2010: p. 301-312.
111. !!! INVALID CITATION !!!

-
112. Godoy, M., G. Farr, and R. McKittrick, *Updated Preliminary Economic Assessment on the Angostura Gold-Silver Underground Project, Santander Department, Colombia*. 2012. p. 1-270.