

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

ESCUELA DE FÍSICA



Trabajo de graduación:

Determinación del nivel de contaminación por metales pesados nefrotóxicos en muestras de suelo, a través del análisis de sus concentraciones y distribución geográfica, en comunidades agrícolas del cantón Guayapa Abajo en la zona costera del país.

Presentado por:

Br. Jessica Vanessa Aguilar

Asesor:

Dr. Rafael Antonio Gómez Escoto

Para optar al grado de:

Licenciada en Física

Ciudad Universitaria, Mayo de 2018

Aprobación de asesor

Dr. Rafael Antonio Gómez Escoto

Autoridades Universitarias

Rector

M.Sc. Roger Armando Arias Alvarado

Secretario General

Lic. Cristóbal Hernán Ríos Benítez

Fiscal General

Lic. Rafael Humberto Peña Marín

Decano de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática

Lic. Mauricio Hernán Lovo Córdoba

Director de la Escuela de Física

M.Sc César Armando Alvarado Batres

ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE CONTENIDOS	5
ÍNDICE DE TABLAS	7
ÍNDICE DE FIGURAS	8
RESUMEN	11
INTRODUCCIÓN	13
1. MARCO TEORICO	15
1.1 Metales pesados	15
1.2 Movilidad y Disponibilidad de los metales pesados	16
1.3 Interacción de la radiación con la materia	18
1.4 Emisión de rayos X	20
1.5 Bremsstrahlung y radiación característica	22
1.5.1 Espectro continuo.	22
1.5.2 Espectro de líneas.	23
1.6 Ley de Beer-Lambert	23
1.7 Interacciones de fotones y electrones con la materia	24
1.7.1 Absorción fotoeléctrica.	24
1,7,2 Efecto Compton.	25
1.7.3 Dispersión de Rayleigh.	25
1.7.4 Electrón Auger	26
1.8 Fluorescencia de Rayos X por dispersión de energía (EDXRF) y por dispersión de longitud de onda (WDXRF)	27
1.8.1 WDXRF.	27
1.8.2 EDXRF.	28
1.9 Fluorescencia de Rayos X por Reflexión Total (FRXT).	28
1.9.1 Fluorescencia de Rayos X por Dispersión de Energía y por Reflexión Total (FRX y FRXT)	30
1.10 Distribución espacial de concentraciones	32
1.11 Métodos de levantamiento de muestras	33
2. METODOLOGÍA	36
2.1 Muestras de suelo para análisis de laboratorio.	36
2.2 Recolección de muestras	36
2.3 Preparación de las muestras	36
2.4 Instrumentación	39
2.4.1 Portamuestras.	39

2.4.2 Fuente de excitación de rayos X	40
2.4.3 Detector de semiconductor.	41
2.5 Arreglo experimental	42
2.6 Análisis cualitativo y cuantitativo	43
2.7 Límites de detección	46
3. UBICACIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO -----	47
4. RESULTADOS -----	48
4.1 Extracción y recolección de muestras.	48
4.2 Tratamiento y preparación de muestras.	49
4.3 Análisis cualitativo.	52
4.3.1 Formatos de espectros de FRXT	52
4.3.2 Pre calibración de los espectros obtenidos	53
4.3.3 Declaración de elementos de interés	53
4.3.4 Extracción del ruido de fondo	54
4.3.5 Deconvolución de los espectros	54
4.3.6 Error en las medidas de los espectros	55
4.4 Análisis cuantitativo.	56
4.4.1 Curva de calibración para la cuantificación.	56
4.4.2 Extensión de la calibración para elementos no medidos.	58
4.4.3 Medición de muestras desconocidas	59
4.5 Cuantificación de prueba	59
4.6 Cuantificación de las concentraciones de As, Pb, Ni, Cu y Zn	61
4.7 Mapas de interpolación espacial para los cinco metales analizados.	64
5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES -----	70
6. RECOMENDACIONES -----	73
ANEXOS -----	74
Anexo 1. Muestras recolectadas en la zona de estudio.	74
Anexo 2. Información técnica de solución elemental Merck IV.	76
Anexo 3. Concentraciones de As, Pb, Ni, Cu y Zn medidas en ppm	77
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	80

ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1: Movilidad de elementos traza activos bioquímicamente en función del pH. (García C. et al. 2002)</i>	17
<i>Tabla 2: Espectro electromagnético. Modificado de (Bounakhla M. & Tahri M. 2006)</i>	18
<i>Tabla 3: Parámetros técnicos importantes del Equipo de FRXT (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012)</i>	39
<i>Tabla 4: Tipos de portamuestras.</i>	40
<i>Tabla 5: Líneas de emisión (keV) de algunos metales pesados.</i>	43
<i>Tabla 6: Lugares de extracción de muestras en Guayapa Abajo.</i>	47
<i>Tabla 7: Número de muestras recolectadas por comunidades.</i>	48
<i>Tabla 8: Algunos de los elementos de interés que fueron declarados en los espectros de energía. Algunos fueron declarados con la línea característica K y otros con L</i>	54
<i>Tabla 9: Ejemplo de archivo de extensión *.ASR que contiene la información estadística de las líneas características que se detectaron con la deconvolución del espectro CoB2.</i>	55
<i>Tabla 10: Soluciones de diferentes concentración de Merck IV para calibración con Ga.</i>	56
<i>Tabla 11: Ejemplo de archivo de extensión *.ARP que contiene la información estadística de conteo y concentraciones de los elementos medidos para la muestra CO-B5.</i>	59
<i>Tabla 12: Valores certificados y medidos de algunos elementos de las muestras ISE 951 e ISE 998. (WAGENINGEN UNIVERSITY ENVIROMENTAL SCIENCES)</i>	60
<i>Tabla 13: Valores máximos de concentraciones en suelos de zonas de cultivo y de residencia recomendadas por la CCME.</i>	61
<i>Tabla 14: Resultados de concentraciones obtenidas en la cuantificación de las muestras de suelo.</i>	62

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1: Dinámica de los metales pesados. (Isabel Sánchez. 2003)</i>	17
<i>Figura 2: Efectos físicos de la interacción de la radiación con la materia. Modificado de (Bernard Valeur. 2001)</i>	18
<i>Figura 3: Diagrama de Pierre-Jablonsky. Posiciones relativas de absorción, fluorescencia y fosforescencia y sus tiempos característicos. Modificado de (Bernard Valeur. 2001)</i>	19
<i>Figura 4: Fluorescencia de rayos X usando el modelo de Bohr. Modificado de (Schlotz R. & Uhlig S. 2006)</i>	21
<i>Figura 5: Modelo atómico de Bohr de capas. Modificado de (Schlotz R. & Uhlig S. 2006)</i>	22
<i>Figura 6: Bremsstrahlung y radiación característica. Modificado de (Peter Atkins & Julio de Paula. 2010)</i>	22
<i>Figura 7: Ley de Beer-Lambert. Modificado de (Schlotz R. & Uhlig S. 2006)</i>	23
<i>Figura 8: Esquema del efecto fotoeléctrico. Modificado de (Schlotz R. & Uhlig S. 2006)</i>	24
<i>Figura 9: Esquema del efecto Compton. Modificado de (Schlotz R. & Uhlig S. 2006)</i>	25
<i>Figura 10: Esquema de la dispersión Rayleigh. Modificado de (Schlotz R. & Uhlig S. 2006)</i>	25
<i>Figura 11: Contribución al coeficiente de atenuación total en materiales suaves. Modificado de (National Academies Press. Washington, DC, 2015)</i>	26
<i>Figura 12: Electrón Auger. Modificado de (Schlotz R. & Uhlig S. 2006)</i>	26
<i>Figura 13: Rendimiento de fluorescencia vs número atómico para líneas K y L. Modificado de (Schlotz R. & Uhlig S. 2006)</i>	27
<i>Figura 14: Espectrómetros de rayos X de dispersión de longitud de onda y dispersión de energía. Modificado de (José Todolí. 2013)</i>	28
<i>Figura 15: Reflexión total de la luz. (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012)</i>	28
<i>Figura 16: Reflexión total de los Rayos X. (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012)</i>	29
<i>Figura 17: Fluorescencia de rayos X por Dispersión de Energía y por Reflexión Total.</i>	30
<i>Figura 18: Particularidades geométricas más importantes de la técnica FRXT (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012)</i>	31
<i>Figura 19: Pasos de la preparación para análisis FRXT (Schlotz R. & Uhlig S. 2006)</i>	32
<i>Figura 20: Muestreo aleatorio simple (MINISTERIO DEL AMBIENTE. Perú. 2014)</i>	34
<i>Figura 21: Muestreo aleatorio estratificado (MINISTERIO DEL AMBIENTE. Perú. 2014)</i>	34
<i>Figura 22: Muestreo aleatorio sistemático (MINISTERIO DEL AMBIENTE. Perú. 2014)</i>	35
<i>Figura 23: Protocolo para medir el PH en muestras de suelo</i>	37
<i>Figura 24: Tratamiento del suelo previo a la preparación de las muestras de laboratorio</i>	37
<i>Figura 25: Tratamiento del suelo previo al análisis de medición.</i>	38
<i>Figura 26: Espesor de la muestra requerido para análisis FRXT. (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012)</i>	39
<i>Figura 27: Diámetro de la mancha de muestra requerido para análisis FRXT (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012)</i>	39
<i>Figura 28: Clases de portamuestras (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012)</i>	40

<i>Figura 29: Tubo de rayos X con ventana lateral. Modificado de (Bounakhla M. & Tahri M. 2006)</i>	41
<i>Figura 30: Sección transversal de un Detector de Deriva de Silicio (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012)</i>	41
<i>Figura 31: Principio del Detector de Deriva de Silicio. (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012)</i>	42
<i>Figura 32: Diagrama del arreglo experimental. Modificado de (Schlotz R. & Uhlig S. 2006)</i>	42
<i>Figura 33: Ejemplos de curvas de calibración: 1. Sin efectos matriciales. 2 y 3. Con efectos de absorción. 4. Con efectos de reforzamiento. (Valentinuzzi M. 2008)</i>	44
<i>Figura 34: Zona de estudio: Departamento de Ahuachapán, municipio de Jujutla, cantón Guayapa Abajo</i>	47
<i>Figura 35: Zona de estudio y los puntos de coordenadas geográficas donde se extrajeron cada una de las muestras de suelo.</i>	49
<i>Figura 36: Algunas de las 81 muestras de suelo extraídas en la zona de estudio.</i>	49
<i>Figura 37: Valores de pH de las muestras recolectadas</i>	50
<i>Figura 38: Mortero usado para pulverizar la suelo y tamiz usado para seleccionar granos de 53 micrones</i>	50
<i>Figura 39: 50 mg de suelo pesado y depositado en un tubo.</i>	51
<i>Figura 40: Añadidura de Tritón X 100 e estándar interno de Galio para posterior homogeneización.</i>	51
<i>Figura 41: Deposición de la dilución del suelo en un portamuestras y secado de la misma.</i>	51
<i>Figura 42: Diluciones de muestras realizadas contenidas en tubos de plástico de laboratorio y analitos de estudio listos para ser medidos.</i>	51
<i>Figura 43: Casete de porta-muestras siendo introducido en el equipo para la toma de espectros.</i>	52
<i>Figura 44: Espectro de líneas características de FRXT de uno de los analitos de estudio hecho con uno de las muestras de suelo (Co B2), con el software del equipo.</i>	52
<i>Figura 45: Espectro característico de FRXT de la muestra CoB2, con el software AXIL.</i>	53
<i>Figura 46: Espectro característico de la muestra CoB2. Las líneas K_{α} y K_{β} del hierro están indicadas.</i>	53
<i>Figura 47: Espectro característico de la muestra CoB2, con las líneas características agregadas de algunos elementos (relleno rojo en el espectro). Extracción de ruido de fondo en color gris con un polinomio exponencial grado 5.</i>	54
<i>Figura 48: Ejemplos de curvas de calibración obtenidas para Cr y Fe.</i>	57
<i>Figura 49: Extensión de la calibración para los demás elementos no medidos.</i>	58
<i>Figura 50: Comparación de concentraciones de elementos medidos vs certificados de materiales de referencia.</i>	60
<i>Figura 51: Valores mínimos, máximos y promedios del As y Pb obtenidos. Las líneas resaltadas corresponden a los valores permitidos por la CCME según zonas de cultivo y residencia.</i>	62
<i>Figura 52: Valores mínimos, máximos y promedios del Ni y Cu obtenidos. Las líneas resaltadas corresponden a los valores permitidos por la CCME según zonas de cultivo y residencia.</i>	63
<i>Figura 53: Valores mínimos, máximos y promedios del Zn obtenidos. Las líneas resaltadas corresponden a los valores permitidos por la CCME según zonas de cultivo y residencia.</i>	63
<i>Figura 54: Mapa de concentraciones de As en las zonas de residencia y de cultivo.</i>	65

<i>Figura 55: Mapa de concentraciones de Pb en las zonas de residencia y de cultivo.</i>	<i>66</i>
<i>Figura 56: Mapa de concentraciones de Ni en las zonas de residencia y de cultivo.</i>	<i>67</i>
<i>Figura 57: Mapa de concentraciones de Zn en las zonas de residencia y de cultivo.</i>	<i>68</i>
<i>Figura 58: Mapa de concentraciones de Cu en las zonas de residencia y de cultivo.</i>	<i>69</i>

RESUMEN

Múltiples estudios, en su mayoría clínicos, realizados en la zona costera del país, han demostrado una alta prevalencia de la enfermedad renal crónica (ERC) cuya etiología no es atribuible a las causas tradicionales medicamente reconocidas. Los casos han sido reportados principalmente en comunidades agrícolas.

Con el propósito de esclarecer las causas que dan origen a dicha enfermedad, se han propuesto algunas hipótesis, que describen un carácter multicausal del origen de la enfermedad y que incluyen diversos factores de riesgo, de tipo social, ambiental y ocupacional. Dentro de las causas ambientales posibles, se ha mencionado la contaminación de suelos, agua, aire y por tanto alimentos, por agentes tóxicos químicos principalmente por metales pesados (algunos nefrotóxicos). Es por esto, que surge un aumento del interés e importancia por determinar la presencia, cantidad y distribución geográfica de concentraciones de metales pesados en algunas zonas costeras del país, para concluir si existe contaminación o no, y en qué medida. La posible contaminación ambiental luego debe ser estudiada para poder determinar si mantiene una relación causa-efecto con la ERC, y así comenzar a clarificar el origen de la enfermedad.

En El Salvador, varias comunidades de la zona costera del país han sido afectadas por la Enfermedad Renal Crónica, cuya etiología no es atribuible a causas naturales (Orantes M. et al., 2014); de esta problemática y lo mencionado anteriormente, surge el objetivo principal de esta investigación y a partir del cual ha sido planteado el desarrollo de la misma.

La presente investigación consiste en identificar y cuantificar la presencia de metales pesados, especialmente nefrotóxicos, en muestras de suelos de comunidades agrícolas del cantón Guayapa Abajo, del municipio de Jujútla, en la zona costera de El Salvador. Se investigaron las concentraciones de los metales pesados As, Pb, Ni, Zn, y Cu en muestras de suelos, tanto de vocación domiciliar como agrícola. Para ello, se analizaron por Fluorescencia de Rayos X por Reflexión Total (FRXT), 81 muestras de suelo, de las cuales 15 fueron extraídas de zonas donde se cultivan: maíz, frijol, y caña de azúcar. Las otras 66 muestras son de la zona residencial de comunidades pertenecientes al cantón de Guayapa Abajo, en el municipio de Jujútla, departamento de Ahuachapán, El Salvador.

Una vez recolectadas las 81 muestras de suelos se procedió a elaborar el analito de estudio, haciendo pasar las muestras por un tratamiento previo (secadas en un horno de laboratorio y luego pulverizadas y tamizadas). El analito de estudio consistió en una gota (10 μ l) del suelo diluido en una solución acuosa de Tritón X 100, junto con 10 μ l de solución estándar de Ga. Esta disolución fue depositada en el centro de un porta-muestras circular de plexiglás de 3 cm de diámetro. Una vez listos los 81 analitos de estudio, se procedió a medir los espectros de FRXT por medio de la excitación con un tubo de rayos X. De esta manera, se obtuvieron 81 espectros de fluorescencia, los cuales sirvieron para realizar el cálculo de las concentraciones de los metales pesados por medio del método de estándar interno.

En el proceso de cuantificación, solo fueron tomados en cuenta los elementos: As, Pb, Ni, Zn y Cu (debido a que Hg, Cd y Cr no se consiguieron cuantificar, ver apartado de Resultados). Los valores promedios de las concentraciones de todos los metales pesados medidos As, Pb, Ni y Zn, a excepción del cobre, resultaron por debajo del valor máximo recomendado por la CCME

(Canadian Council of Ministers of the Environment). El valor promedio del Cu sobrepasó el valor máximo recomendado en un 32% para la zona de residencia y un 30% para la zona de cultivo.

Finalmente, se elaboraron 5 mapas (para los metales pesados As, Pb, Ni, Zn y Cu) de interpolación espacial de las concentraciones para poder tener un mejor panorama de la distribución espacial de las concentraciones obtenidas en la zona de estudio.

INTRODUCCIÓN

Se han publicado varios artículos referentes a la Enfermedad Renal Crónica ERC, de etiología desconocida, y su elevada prevalencia en comunidades agrícolas, principalmente. Desde hace un poco más de dos décadas, se ha reportado un incremento de la Nefritis Intersticial Crónica en Comunidades Agrícolas, CINAC, por sus siglas en inglés (Chronic Interstitial Nephritis in Agricultural Communities), que no está asociada con los factores de riesgo tradicionales. Esta enfermedad se ha convertido en un importante problema de salud pública en varios países centroamericanos. (Orantes-Navarro et al., 2017). El Consorcio para el estudio de la Epidemia de Nefropatía en Centroamérica y México (CENCAM) establecido en 2012, publicó un artículo en 2017 que afirmaba con respecto a la ERC de causas desconocidas, que “aunque la etiología no se encuentra esclarecida, existe consenso entre la mayoría de investigadores que la MeN (siglas en inglés de Nefropatía Mesoamericana) tiene un *componente ocupacional y ambiental importante*. (Ramón García-Trabanino et al., 2017).

Un artículo publicado en octubre de 2016 describe la prevalencia de este problema de salud pública en la región centroamericana y otros países. En El Salvador, algunas comunidades agrícolas presentan una prevalencia de ERC de causas desconocidas en personas adultas de un 15-21 %. Menos de la mitad de estas personas presentan diabetes o hipertensión, que son los reconocidos factores desencadenantes de la ERC. Los hombres presentan un mayor porcentaje y el daño renal comienza desde temprana edad. En el país, la ERC es la quinta causa de muerte en personas mayores de 18 años y la segunda causa de muerte en hombres. Marcadores de daño renal han sido encontrados incluso en niños que viven en dichas comunidades agrícolas. Hombres, mujeres, adolescentes y niños que viven en estas comunidades son afectados independientemente de si ellos trabajan o no en el campo. (Jayasumana C. et al., 2016). Estudios publicados en 2014, resaltan el impacto de la ERC en tres comunidades de la zona costera del país: Bajo Lempa. Guayapa Abajo y Las Brisas, reportaron un incremento de ERC, con 15.4%, 20.5% y 21.1% respectivamente. En 51.9% de estos pacientes, no se pudo encontrar las causas de dicha enfermedad. (Almaguer M. et al. 2014)

Un artículo consultado publicado igualmente en abril del 2014 por Herrera R. et al. describe las características clínicas de la ERC especialmente en comunidades agrícolas salvadoreñas. Se realizó un estudio descriptivo de 46 personas (10 mujeres y 36 hombres) con una edad entre 18 y 59 años que padecían la ERC sin causas conocidas. Se encontraron manifestaciones extrarenales, por lo que se sugirió una *hipótesis de etiología multifactorial con un papel clave jugado por agentes ambientales tóxicos (metales pesados y químicos)* de fuentes naturales o de actividad humana. Tales toxinas podrían estar presente en agua, suelos, aire y comida. En 2016, un artículo publicado por Orantes M. et al., describe un estudio pediátrico realizado a personas menores de 18 años, desde dos años de edad. Se realizó el estudio en las 3 comunidades agrícolas identificadas con alta presencia de ERC de causas desconocidas, mencionadas anteriormente: Bajo Lempa, Guayapa Abajo y Las Brisas. Se encontró que desde temprana edad, los menores comenzaban a presentar daños renales. Este descubrimiento adquiere relevancia debido a que la enfermedad se había registrado estar presente comúnmente en adultos, no en niños, por lo que brinda consistencia a la hipótesis de que pueden existir *toxinas ambientales* que representen una contribución considerable a la etiología de la enfermedad.

Una de las metodologías para realizar análisis de contaminación ambiental son las técnicas de espectroscopia. Específicamente la contaminación en muestras de suelos por metales pesados, puede estudiarse de manera muy conveniente con la espectrometría de Fluorescencia de Rayos X (FRX). Los principios básicos y las aplicaciones de esta técnica permiten identificar este tipo de metales. De hecho, una de sus aplicaciones importantes es precisamente en las ciencias ambientales realizando análisis de contaminación, identificando elementos radiactivos, caracterización de materiales, y análisis de partículas en el aire. (Meléndez C. & Camacho A., 2009). La técnica FRX se basa en el estudio de las emisiones de fluorescencia de un material, a partir de la interacción de la radiación proveniente de una fuente de excitación con dicho material, en este caso muestras de suelo.

Los fotones provenientes de la fuente de excitación irradian la muestra de suelo, los átomos en la muestra son excitados, y luego se des-excitan por la emisión de rayos X con energías propias de los elementos en la muestra. Las intensidades fluorescentes están relacionadas con la concentración de cada elemento en la muestra y con las probabilidades de excitación. Esta emisión de fluorescencia de rayos X llamados rayos X característicos interactúa en el detector. Cada rayo X libera un pulso de carga, proporcional a la energía depositada. La electrónica de procesamiento de señales mide la carga total (la energía total) de cada pulso, es decir, de cada uno de los rayos X individuales; hace una suma de los resultados de todas las interacciones en un histograma, que muestra el número de eventos en cada una de las energías (espectro de energía). Los picos en el espectro corresponden a los elementos de la muestra. El número de los rayos X en cada pico es proporcional al número de átomos. El software de análisis en la PC detecta qué picos están presentes, encuentra la intensidad de cada pico, y calcula la concentración de cada elemento en la muestra.

Dentro de la espectrometría de Fluorescencia de Rayos X se encuentra la espectroscopia de Fluorescencia de Rayos X por Reflexión Total (FRXT): es un método basado en la dispersión de energía, pero con una geometría de excitación especial: el haz de rayos X primario se encuentra a un ángulo menor o igual al ángulo crítico para la reflexión total del portamuestras. Con este arreglo geométrico, los rayos X levemente alcanzan a penetrar el portamuestras y por tanto la contribución de la radiación primaria dispersada es minimizada. La muestra es doblemente excitada: por el haz de rayos X primario y el reflejado, por tanto la señal fluorescente es prácticamente el doble de intensa que en la forma de excitación en un arreglo convencional de FRX por dispersión de energía. (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012).

La técnica de FRXT requiere solamente una gota de la muestra, la cual puede ser tratada por medio de digestiones ácidas o simplemente ser disuelta en un solvente, para luego ser medida. Una gota del sustrato es colocada en el portamuestras (plexiglás o cuarzo). Después de que el solvente se evapora, solamente queda una capa muy fina de la muestra. Debido a esto, los efectos matriciales causados por la dispersión son reducidos enormemente, tanto, que en la práctica son despreciados por completo. (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012)

El presente documento se ha dividido en seis apartados principalmente que llevan el siguiente orden: Marco Teórico, Metodología, Ubicación de la zona de estudio, Resultados, Observaciones y Conclusiones, Recomendaciones.

1. MARCO TEORICO

1.1 Metales pesados

Los metales pesados pueden penetrar de diferentes formas, pueden estar en forma sólida, líquida o gaseosa. En función de su estado penetra por la vía más directa (digestiva, respiratoria, cutáneo-mucosa y parenteral). El mercurio, por ejemplo, vaporiza fácilmente potenciando su toxicidad. La vía de entrada más habitual es la digestiva, relacionada con sucesos accidentales, o intoxicaciones criminales. La vía respiratoria y la vía cutáneo-mucosa está más relacionada con la actividad laboral, y la vía parenteral se concreta a las intoxicaciones medicamentosas y a la drogodependencia (Poza F. & Ballesta D., 1995).

Dentro de los metales pesados se distinguen dos grupos: Los Micronutrientes (oligoelementos), son necesarios para el desarrollo de la vida de determinados organismos, son requeridos en pequeñas cantidades o cantidades traza y pasado cierto umbral se vuelven tóxicos. Dentro de este grupo se encuentran As, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Se, V, Zn. Metales pesados no esenciales: metales cuya presencia en determinadas cantidades en los seres vivos, provocan disfunciones en sus organismos. Resultan altamente tóxicos y presentan la propiedad de acumularse en los organismos vivos. Son principalmente: Be, Cd, Hg, Ni, Pb, Sb, Sn y Ti (José Negrete. 2011).

Entre los metales pesados tóxicos pueden distinguirse los que causan principalmente daños renales y estos son conocidos como nefrotóxicos. Algunos de ellos son los siguientes:

Plomo. Es un componente natural de la corteza terrestre, y se encuentra comúnmente en los suelos, plantas y agua a niveles traza. La aparición de Pb metálico en la naturaleza es poco frecuente. A pesar de ser un elemento extraño al organismo, todos tenemos niveles de plomo acumulado. Se ha establecido que a mayor carga corporal de plomo, mayor daño renal. Se ha redefinido como nivel seguro 10 microgramos/dL (desde 1990), pero varios estudios afirman que se presenta daños en la salud a cantidades menores que esta. (Patiño M. et al. 2006)

Cadmio. Tiene una vida media mayor de 10 años en el organismo humano y se ha calculado que de la carga total corporal el 50 % se aloja en el riñón (Patiño M. et al. 2006). Los contenidos de Cd en los suelos son relativamente bajos y la absorción en los vegetales es relativamente pobre, por lo que en condiciones normales de cultivo, no suele ser preocupante esta vía de entrada en la cadena alimenticia, pero si se pueden dar valores más elevados al utilizar fuentes de abonos fosforados ricos en Cd o bien residuos urbanos. El Cd se encuentra en el ambiente de lugares de trabajo que manipulen baterías, soldadura, pigmentos, etc., en aguas contaminadas; en lugares cercanos a centrales térmicas y quemaderos de basuras y particularmente en el tabaco. El Cd se encuentra presente en la mayoría de los alimentos siendo más abundante en moluscos y dentro de las carnes en hígados y en riñones. Los niveles máximos tolerables de Cd son de 68 ug/persona/día para un peso de 68 kg (José Negrete. 2011).

Cobre. Es un metal que ocurre naturalmente en el ambiente en rocas, el suelo, el agua y el aire. Es esencial para plantas y animales (incluso seres humanos). Las fuentes naturales de cobre incluyen el viento, partículas volcánicas, incendios forestales, brisa marina, y procesos biogénicos; mientras que las fuentes antropogénicas son: fundidoras, industria del hierro, estaciones de energía, minas de Cu y lodos de drenaje. El Cu se usa en la fabricación de

fertilizantes, bactericidas, fungicidas, plaguicidas, sistemas de distribución de agua, preservadores de maderas, entre otros. En la atmósfera se encuentra asociado con las partículas sólidas y es a través de la sedimentación, deposición seca y lluvia que llega al suelo. (José Negrete. 2011)

Mercurio. La intoxicación por mercurio suele ser accidental o por autólisis. El Hg es emitido a la atmósfera de numerosas fuentes naturales y antropogénicas, que puede ser depositado de fuentes emisoras o por transporte atmosférico seguido por la deposición en ecosistemas lejanos a la fuente emisora. En contraste a la mayoría de los metales, el Hg y muchos de sus compuestos tienen un carácter excepcional en el ambiente debido a su volatilidad y capacidad para la metilación. (José Negrete. 2011)

Arsénico. Utilizado como pesticida en compuestos inorgánicos. Se presenta como vapor al transformarse el anhídrido en ácido elevando su toxicidad. Muchos compuestos de As adsorben fuertemente a los suelos y son, por tanto, transportados sólo en distancias cortas en las aguas subterráneas y las aguas superficiales. El arsénico se asocia con daño de la piel, aumento del riesgo de cáncer, y problemas con el sistema circulatorio. (Raymond A. & Okieimen F. 2011)

Cromo. Es uno de los metales pesados menos comunes y no se encuentra naturalmente en forma elemental, sino sólo en los compuestos. Las principales fuentes de contaminación por cromo incluyen las liberaciones derivadas de los procesos de electrodeposición y la eliminación de desechos que contienen Cr. La movilidad del Cr depende de las características de sorción del suelo, incluyendo el contenido de arcilla, el contenido de óxido de hierro, y la cantidad de materia orgánica presente. El Cr puede ser transportado por la escorrentía superficial de aguas superficiales, en su forma soluble o precipitada. La mayoría de Cr liberado en aguas naturales se asocia a partículas, sin embargo al final es depositado como sedimentos. (Raymond A. & Okieimen F. 2011).

1.2 Movilidad y Disponibilidad de los metales pesados

La disponibilidad y movilidad de los metales pesados, depende en primer lugar, del tipo de matriz en la cual están inmersos. La disponibilidad del metal pesado no depende solamente de la cantidad de dicho metal presente sino también de la forma química y física en la que se encuentre. Dependiendo del tipo de matriz, las características de adsorción, precipitación y complejación de los metales pesados variará. En el suelo, los metales pesados pueden estar en una fase móvil si están en forma de iones. Pueden continuar en esa fase móvil a través de la complejación con ligandos solubles orgánicos e inorgánicos (hidróxidos, carbonatos, sulfatos, cloruros, fosfatos y nitratos); o pueden pasar a una fase inmóvil a través de la adsorción (a materia orgánica, partículas de arcilla, óxidos de Fe, Al y Mn, y otros constituyentes del suelo) y precipitación (sulfuros, hidróxidos, carbonatos y fosfatos). (Isabel Sánchez. 2003)

La dinámica de los metales pesados presentes en el suelo puede ser resumida en el siguiente esquema:

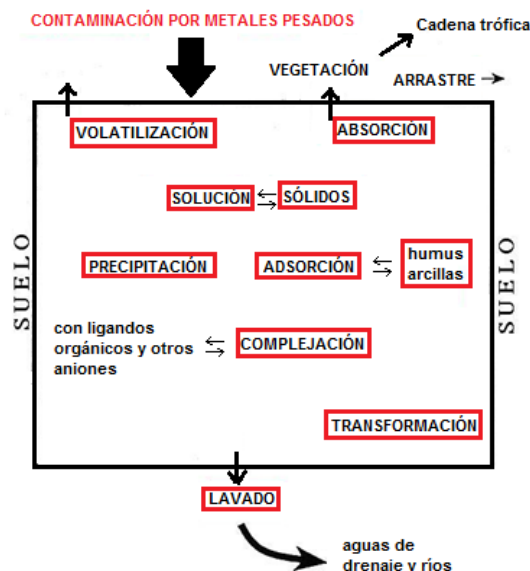


Figura 1: Dinámica de los metales pesados. (Isabel Sánchez. 2003)

Ciertos parámetros físicos y químicos dictaminan el comportamiento del suelo frente a la acumulación del metal pesado, parámetros como pH, potencial de oxidación-reducción, etc. EL pH es uno de los parámetros que tiene más influencia sobre la movilidad de contaminantes en suelos. Las relaciones de adsorción-desorción determinan la biodisponibilidad y toxicidad de los metales pesados en suelos. Se ha concluido en otras investigaciones, por ejemplo, que en general los suelos de pH más básico presentan adsorción más fuerte para los metales pesados (mayor retención de los metales) que los de pH más ácido. Otra conclusión útil para esta investigación es que en general los metales pesado tienden a estar más disponibles en suelos ácidos exceptuando As, Mo, Se y Cr, que presentan mayor disponibilidad en suelos alcalinos. (Isabel Sánchez. 2003)

El valor del pH influye directamente en la solubilidad de los cationes. Dependiendo de la naturaleza del elemento, la condición del suelo acida o alcalina, fijará los cationes o les aumentará su movilidad, favoreciendo su solubilidad por tanto aumentando su toxicidad.

Tabla 1: Movilidad de elementos traza activos bioquímicamente en función del pH. (García C. et al. 2002)

Asociaciones geoquímicas en suelos	Prácticamente inmóviles	Moderadamente móviles	Fácilmente móviles
Acido (pH menor que 5.5)	Mo	Pb, Co, As, V, Ni, Cr	Sr, Ba, Cu, Zn, Cd, Hg
Neutro o débilmente acido (pH entre 5.5 y 7.5)	Pb	Sr, Ba, Cr, Cu, Cd, Co, Mo	Zn, V, As
Alcalino o fuertemente alcalino (pH entre 7.5 y 9.5)	Pb, Ba, Co	Zn, Ag, Sr, Cu, Cd	Mo, V, As.

1.3 Interacción de la radiación con la materia

Para estudiar los principios básicos de fluorescencia de rayos X, es conveniente comenzar estudiando la interacción de la radiación con la materia. Los diferentes tipos de radiación se clasifican en el espectro electromagnético, que contiene un amplio rango de longitudes de onda correspondientes a cada radiación electromagnética, que van desde los kilómetros hasta los picómetros; y en este sentido tanto los rayos X como la luz visible y cualquier otro tipo de radiación son de la misma naturaleza.

Tabla 2: Espectro electromagnético. Modificado de (Bounakhla M. & Tahri M. 2006)

Rango de energía (keV)	Rango de longitud de onda	Nombre
$< 10^{-7}$	cm – km	Ondas de radio
$< 10^{-3}$	μm – cm	Microondas
$< 10^{-3}$	μm – mm	Infrarrojo
0.0017 – 0.033	380 – 750 nm	Luz visible
0.033 – 0.1	10 – 380 nm	Ultravioleta
0.11 – 100	0.01 – 12 nm	Rayos X
100 – 500	0.0002 – 0.12 nm	Radiación Gamma

Cada tipo de radiación tiene sus propios efectos cuando interactúa con la materia. La energía de los distintos tipos de radiación a nivel atómico y molecular está cuantizada. Cada proceso físico, al interactuar la radiación con la materia, depende de los niveles de energía involucrados. Cuando no hay niveles de energía disponibles que coincidan con el rango de energía de la radiación incidente, el material se considera transparente y no se da ningún tipo de proceso físico. Así, se tiene una clasificación: radiaciones ionizantes y no ionizantes. Los rayos X pertenecen a las radiaciones ionizantes que son las que tienen energía suficiente como para arrancar electrones de los átomos con los que interactúan, es decir, para producir ionizaciones. La radiación emitida por un átomo o molécula después de haber sido ionizado, es decir, después de haber absorbido energía para hacer una transición electrónica a un estado excitado se denomina luminiscencia. Dependiendo de la naturaleza del estado excitado, luminiscencia se divide en fluorescencia y fosforescencia. (Bernard Valeur. 2001)

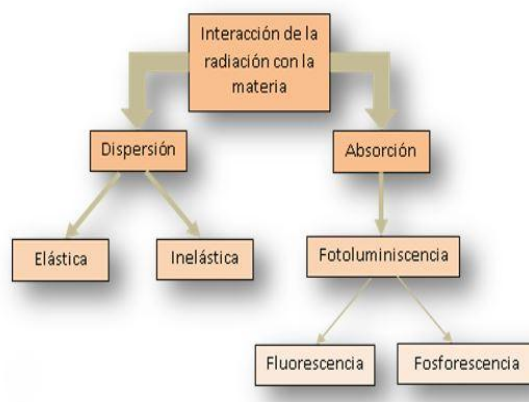


Figura 2: Efectos físicos de la interacción de la radiación con la materia. Modificado de (Bernard Valeur. 2001)

Cuando la molécula o el átomo han sido excitados por la absorción de un fotón, ésta puede regresar a su estado basal por medio de la emisión de fluorescencia, pero también por otros mecanismos de desactivación del estado excitado. Estos mecanismos preceden y/o compiten con la fluorescencia. Las características de los procesos de emisión de fluorescencia de una molécula excitada se pueden describir mediante el diagrama de Pierre-Jablonsky.

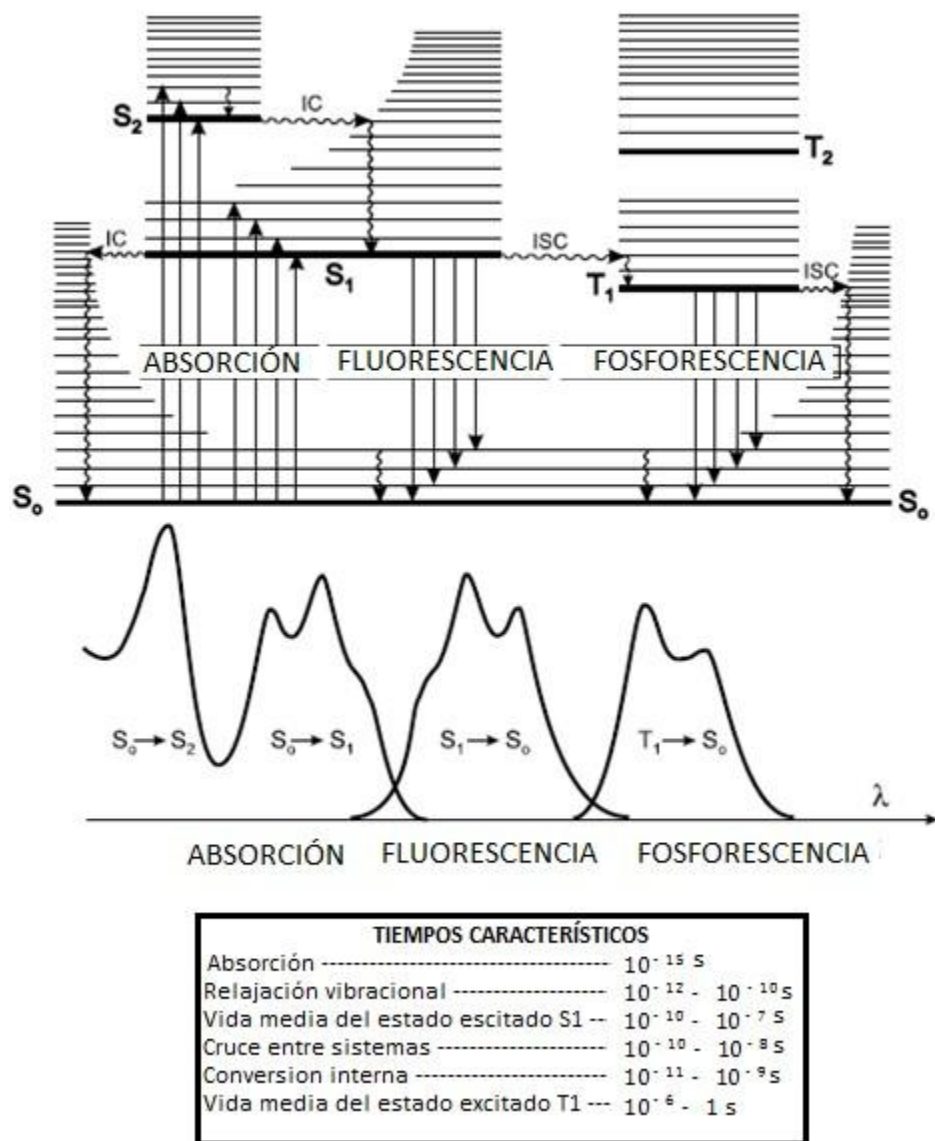


Figura 3: Diagrama de Pierre-Jablonsky. Posiciones relativas de absorción, fluorescencia y fosforescencia y sus tiempos característicos. Modificado de (Bernard Valeur. 2001)

La **conversión interna** (IC Internal Conversion). Es una transición no radiativa entre dos estados electrónicos de la misma multiplicidad de espín (S_0 , S_1 ...). Este proceso es seguido por una relajación vibracional hacia el nivel de vibración más bajo del estado electrónico final. El exceso de energía vibratoria puede ser transferido durante las colisiones de la molécula excitada con las moléculas circundantes. La conversión interna puede competir con emisión de fotones (Fluorescencia) y el cruce entre sistemas al estado triplete a partir del cual se da la emisión de fotones (fosforescencia). (Bernard Valeur. 2001)

La **fluorescencia** es la emisión espontánea de fotones que acompañan a la relajación $S_1 \rightarrow S_0$

Sus características (excepto polarización) no dependen de la longitud de onda de excitación (por supuesto siempre que exista una sola especie en el estado fundamental). La emisión de un fotón es tan rápido como la absorción (10^{-15} s). Sin embargo, moléculas excitadas permanecen en el estado S_1 durante un cierto tiempo (de picosegundos a nanosegundos, dependiendo del tipo de molécula y el medio) antes de emitir un fotón o someterse a otro tipo de desexcitación (conversión interna, cruce entre sistemas). Por lo tanto, después de la excitación de una población de moléculas, la fluorescencia disminuye exponencialmente con un tiempo característico (vida media de las moléculas en el estado excitado S_1). (Bernard Valeur. 2001)

El **cruce entre sistemas** (ISC Intersystem Crossing) es una transición no radiativa entre dos niveles vibracionales isoenergéticos pertenecientes a estados electrónicos de diferentes multiplicidades. Por ejemplo, una molécula excitada en el nivel vibratorio 0 del estado S_1 se puede mover al nivel vibratorio isoenergético del estado triplete T_n ; luego la relajación vibracional la llevará al nivel de vibración más bajo T_1 . Esta transición puede ser lo suficientemente rápida (10^{-7} s - 10^{-9} s) para competir con otros procesos (fluorescencia y conversión interna). (Bernard Valeur. 2001)

El cruce entre estados de diferente multiplicidad está en principio prohibido, pero el acoplamiento spin-orbita puede ser lo suficientemente grande como para que sea posible. A temperatura ambiente, la desexcitación no radiativa desde el estado triplete T_1 , predomina sobre la desexcitación radiativa llamada fosforescencia. La constante de velocidad radiativa es por lo tanto muy baja. Durante un proceso tan lento, las numerosas colisiones con moléculas circundantes favorecen el cruce entre sistemas y la relajación vibracional en S_0 . Por el contrario, a bajas temperaturas y/o en un medio rígido, la fosforescencia se puede observar. El tiempo de vida del estado triplete puede, bajo estas condiciones, ser lo suficientemente largo para observar la fosforescencia en una escala de tiempo de hasta segundos, incluso minutos o más. (Bernard Valeur. 2001)

El espectro de fosforescencia se encuentra en longitudes de onda más alta que la fluorescencia porque la energía del nivel de vibración más baja del estado triplete T_1 es menor que la del estado singlete S_1 . (Bernard Valeur. 2001)

1.4 Emisión de rayos X

La emisión de radiación electromagnética puede ocurrir cuando fotones y partículas interactúan con los átomos, con sus núcleos y/o electrones. Los fotones presentan la propiedad de interactuar con los electrones, también pueden interactuar con los núcleos. Cuando los fotones y neutrones interactúan con los núcleos, lo hacen en un solo proceso, desapareciendo luego del haz original. Las partículas cargadas, en cambio, lo hacen básicamente vía interacción coulombiana tanto con electrones como con núcleos atómicos, en procesos de múltiples etapas. (Fernández C. et al. 2015)

La emisión específicamente de rayos X se da cuando un electrón en un orbital es removido, esto se puede dar de varias formas: bombardear un blanco con electrones de alta energía, rayos X o partículas cargadas aceleradas.

La energía para que el electrón sea expulsado del orbital atómico debe ser mayor que la energía de ligadura de dicho electrón al núcleo del átomo. Cuando un electrón de una capa interior es expulsado del átomo, otro electrón de una capa superior se transferirá a esta vacante recién formada. Es durante esta transición que un fotón puede ser emitido del átomo, con una energía que será igual a la diferencia de energías entre los dos orbitales ocupados por el electrón en transición. (Fernández C. et al. 2015)

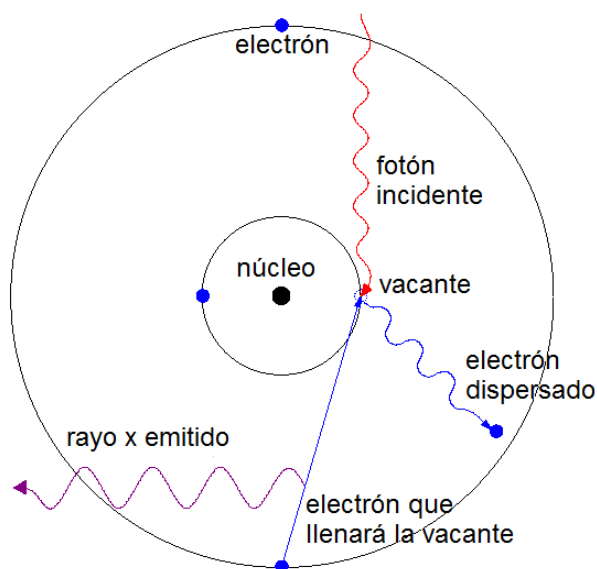


Figura 4: Fluorescencia de rayos X usando el modelo de Bohr. Modificado de (Schlotz R. & Uhlig S. 2006)

Se requiere una cantidad mínima claramente definida de energía para liberar un electrón de la capa más interna del átomo. Para liberar un electrón de la segunda capa más interna del átomo, se requiere una cantidad menor que la que se necesita para liberar un electrón más interno. La ligadura de un electrón a un átomo es más débil cuanto más lejos está del núcleo del átomo. (Schlotz R. & Uhlig S. 2006)

Las capas individuales están etiquetadas con las letras K, L, M, N,..., a la capa más interna se le denomina capa K, la segunda más interna se le denomina capa L, luego la siguiente más interna capa M, y así sucesivamente. La capa K está ocupada por 2 electrones, la capa L tiene tres sub-niveles y puede contener hasta un total de 8 electrones. La capa M tiene cinco sub-niveles y pueden contener hasta 18 electrones. (Schlotz R. & Uhlig S. 2006)

Cuando un electrón es expulsado de la capa K, el átomo se ioniza. Si esta vacante del electrón es llenada por un electrón procedente de la capa L, la transición está acompañada por la emisión de una línea de rayos X conocida como línea K. Este proceso deja una vacante en la capa L, la cual podría ser ocupada por un electrón procedente de la capa M que es acompañada por la emisión de una línea L. (Schlotz R. & Uhlig S. 2006)

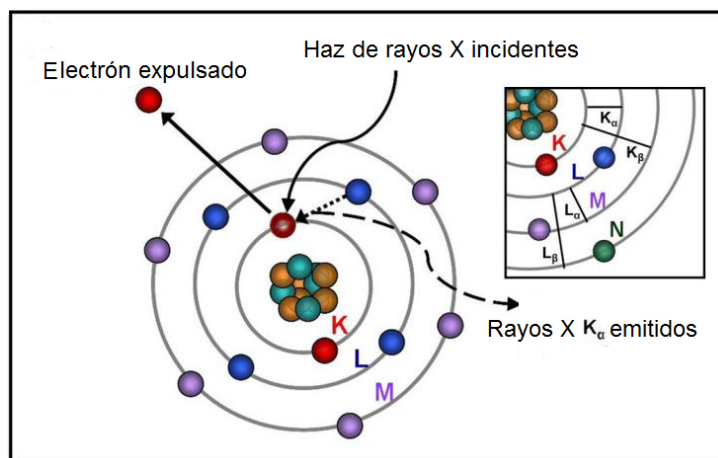


Figura 5: Modelo atómico de Bohr de capas. Modificado de (Brian Cross. 2011)

1.5 Bremsstrahlung y radiación característica

En la producción de rayos X se produce radiación de dos maneras: Una en forma de un *espectro continuo* de energías de rayos X y la otra en forma de radiación discreta que es característica de los elementos del blanco utilizado.

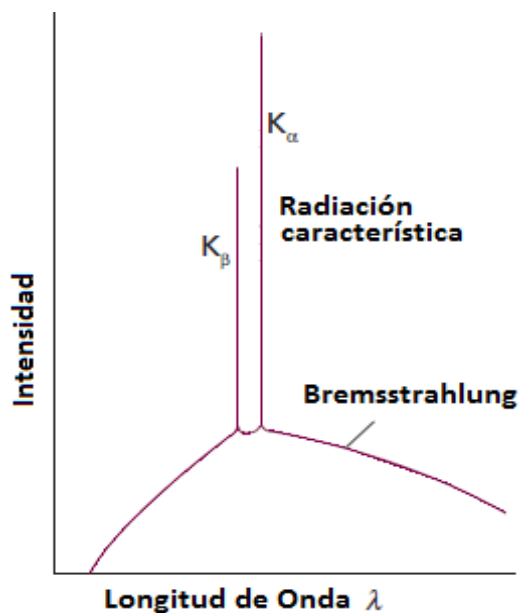


Figura 6. Bremsstrahlung y radiación característica. Modificado de (Peter Atkins & Julio de Paula. 2010)

1.5.1 Espectro continuo.

Se produce cuando los electrones o partículas de alta energía cargada pierden energía al pasar por el campo de Coulomb de un núcleo. En esta interacción, la energía radiante (fotones) perdida por el electrón se llama Bremsstrahlung. Se tiene una explicación simple en términos de la teoría electromagnética clásica, ya que de acuerdo a esto; la aceleración de partículas cargadas debería ir acompañada de emisión de radiación. En el caso de electrones de alta

energía que chocan contra un objetivo, deben ser rápidamente desacelerados a medida que penetran el material, y una alta aceleración negativa debe producir un pulso de radiación. (Peter Atkins & Julio de Paula. 2010).

1.5.2 Espectro de líneas.

Es un espectro de rayos X característicos que surge sólo a partir de la transición de electrones de una capa atómica superior a una inferior, para hacer esto debe contarse con un método adecuado para la liberación de electrones de capas más internas. Esto implica agregar a los electrones internos, cantidades de energía superiores a la energía de ligadura de ellos al átomo. (Peter Atkins & Julio de Paula. 2010).

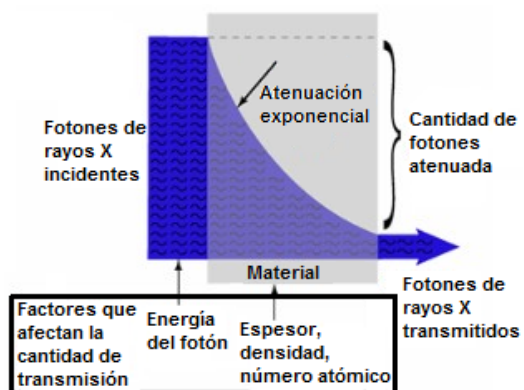
Esto puede hacerse en varias maneras (Peter Atkins & Julio de Paula. 2010):

- Irradiación utilizando partículas elementales con suficiente energía (electrones, protones, partículas...) que transfieran la energía necesaria para la liberación de los electrones de la capa interior atómica durante los procesos de colisión.
- Irradiación mediante rayos X o rayos gamma de radionúclidos.
- Irradiación utilizando rayos X a partir de un tubo de rayos X.

1.6 Ley de Beer-Lambert

Cuando los rayos X se dirigen a un objeto, algunos de los fotones interactúan con las partículas de la materia y su energía puede ser absorbida o dispersada. Esta absorción y dispersión es llamada atenuación. Otros fotones viajan a través del objeto sin interactuar con cualquiera de las partículas del material.

El número de fotones que se transmite a través de un material depende del espesor, densidad y número atómico del material, y la energía de fotones individuales. Incluso cuando tienen la misma energía, los fotones viajan distancias diferentes dentro de un material simplemente basándose en la probabilidad de su encuentro con una o más de las partículas del material y el tipo de encuentro que se produzca. Dado que la probabilidad de un encuentro aumenta con las distancias recorridas, el número de fotones que llega a un punto específico dentro la materia disminuye exponencialmente con la distancia recorrida. (Schlotz R. & Uhlig S. 2006)



La fórmula que describe esta curva es:

$$I = I_0 e^{-\mu x} \text{ (Ley de Beer-Lambert)} \quad (1.1)$$

I_0 es la intensidad inicial de los fotones

μ es el coeficiente de absorción lineal

x es la distancia viajada

Figura 7: Ley de Beer-Lambert.
Modificado de (Schlotz R. & Uhlig S. 2006)

El coeficiente de absorción lineal [1/cm] depende de la energía o longitud de onda de los cuantos de rayos X y de la densidad ρ especial [g/cm³] del material por el cual pasó. El coeficiente de absorción lineal no establece las propiedades de absorción del elemento, sino que es más bien relacionado con la ρ densidad del material a través de:

μ/ρ = Coeficiente de atenuación másico

Solo depende del número atómico del material absorbente y de la energía o longitud de onda de los cuantos de rayos X. El coeficiente de atenuación másico representa las diversas interacciones. Está compuesto principalmente por las siguientes componentes: (Schlotz R. & Uhlig S. 2006)

$$\mu(E) = \tau(E) + \sigma_{coh}(E) + \sigma_{inc}(E) \quad (1.2)$$

$\tau(E)$ es el coeficiente de absorción másico fotoeléctrico;

$\sigma_{coh}(E)$ es el coeficiente de absorción másico coherente;

$\sigma_{inc}(E)$ es el coeficiente de absorción másico incoherente

1.7 Interacciones de fotones y electrones con la materia

1.7.1 Absorción fotoeléctrica.

Ocurre cuando un fotón transfiere toda su energía a un electrón situado en una capa atómica. El electrón es expulsado del átomo por esta energía y comienza a pasar a través de la materia circundante. El electrón pierde rápidamente su energía y se mueve solamente una distancia relativamente corta desde su ubicación original. La energía del fotón es, por lo tanto, depositada en la materia cerca del sitio de la interacción fotoeléctrica. La absorción fotoeléctrica suele ocurrir con los electrones que están firmemente unidos al átomo, es decir, aquellos con una energía de unión relativamente alta, porque son más probables cuando la energía de enlace de electrones es sólo ligeramente menor que la energía del fotón. Esta probabilidad también depende del número atómico del material. La relación general es que la probabilidad de interacciones fotoeléctricas es proporcional a Z^3 . En general, las condiciones que aumentan la probabilidad de interacciones fotoeléctricas son bajas energías de los fotones y materiales de alto número atómico. Este proceso es a menudo el principal contribuyente de la absorción de rayos X, y es el modo de excitación de los espectros de rayos X emitidos por los elementos en muestras. (Schlotz R. & Uhlig S. 2006)

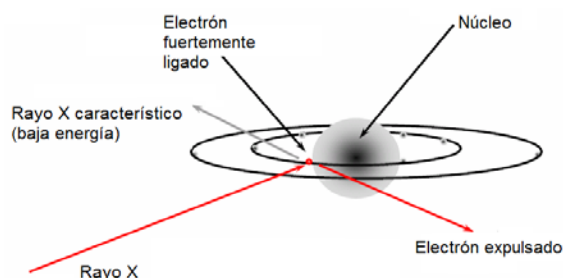


Figura 8: Esquema del efecto fotoeléctrico. Modificado de (Schlotz R. & Uhlig S. 2006)

1.7.2 Efecto Compton.

También conocido como dispersión incoherente, es la interacción de un fotón con un electrón libre que se considera que esta en reposo. La débil unión de los electrones a los átomos puede despreciarse puesto que el impulso transferido al electrón es muy superior al impulso del electrón en el estado ligado. La energía relativista y el impulso se conservan en este proceso y los fotones de rayos X dispersados tienen menos energía y por lo tanto una longitud de onda más larga que el fotón incidente. La dispersión de Compton es importante para los especímenes de bajo número atómico. (Schlotz R. & Uhlig S. 2006)

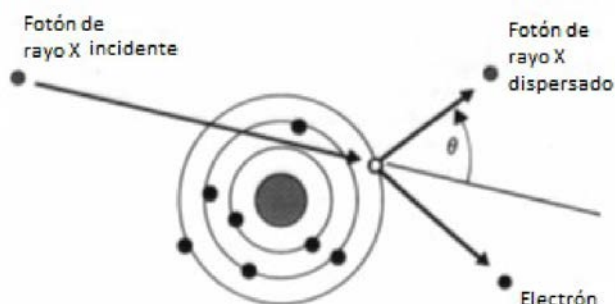


Figura 9: Esquema del efecto Compton. Modificado de (Schlotz R. & Uhlig S. 2006)

1.7.3 Dispersión de Rayleigh.

(Dispersión elástica), es un proceso por el que los fotones son dispersados por los electrones atómicos ligados y en el que el átomo no es ni ionizado ni excitado. Los fotones incidentes son dispersados con energía invariable y con una relación de fase definida entre las ondas entrantes y dispersadas. La intensidad de la radiación dispersada por un átomo se determina sumando las amplitudes de la radiación coherentemente dispersada por cada uno de los electrones ligados al átomo. Debe hacerse hincapié en que la coherencia se extiende sólo sobre los electrones Z de átomos individuales. La interferencia es siempre constructiva, siempre que el cambio de fase sobre el diámetro del átomo sea menor que la mitad de una longitud de onda. La dispersión de Rayleigh se produce principalmente a bajas energías y para materiales de alta Z . (Schlotz R. & Uhlig S. 2006)

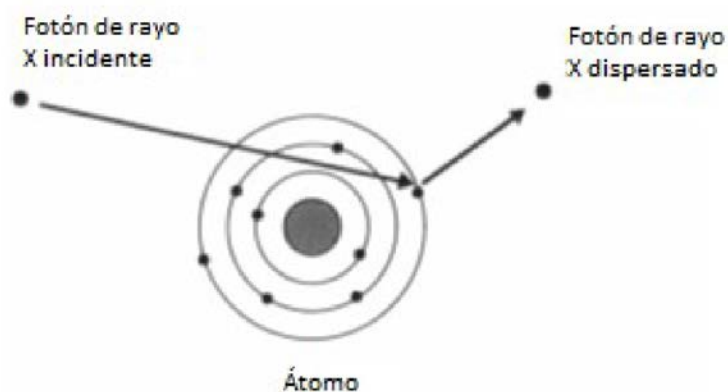


Figura 10: Esquema de la dispersión Rayleigh. Modificado de (Schlotz R. & Uhlig S. 2006)

La energía a la cual las diferentes interacciones se vuelven predominantes depende del número atómico del material. A energías de fotones bajas el efecto fotoeléctrico se vuelve predominante sobre la dispersión Compton. A medida que la energía de los fotones aumenta, decrece la probabilidad del efecto fotoeléctrico, y aumenta la probabilidad de dispersión Compton. La contribución de la dispersión de Rayleigh no es despreciable, sin embargo, se vuelve pequeña comparada con el efecto Compton y el efecto fotoeléctrico. (National Academies Press. Washington, DC, 2015)

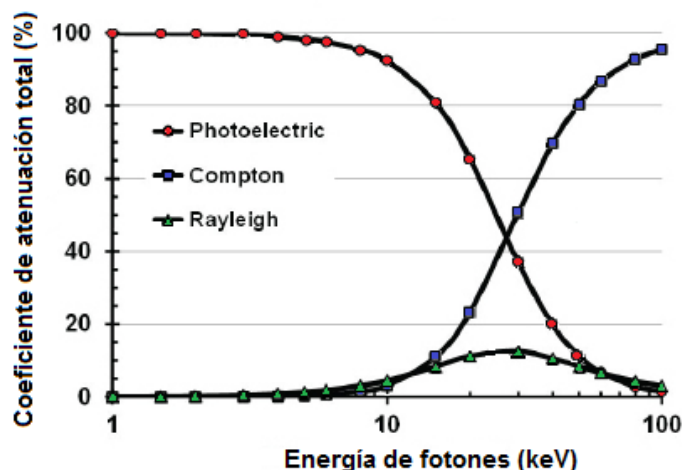


Figura 11: Contribución al coeficiente de atenuación total en materiales suaves. Modificado de (National Academies Press. Washington, DC, 2015)

1.7.4 Electrón Auger

Cuando un electrón es expulsado de un orbital por el proceso fotoeléctrico, hay dos resultados posibles: emisión de rayos X, o expulsión de electrones Auger. Uno de estos dos eventos se produce para cada átomo excitado, pero no ambos. Por lo tanto, la producción de electrones Auger es un proceso competitivo con la emisión de rayos X. (Schlotz R. & Uhlig S. 2006)

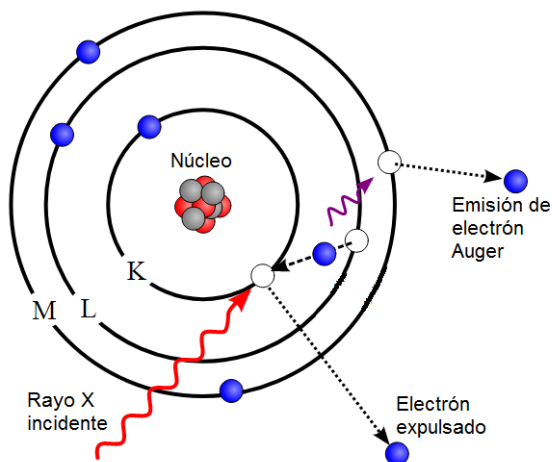


Figura 12: Electrón Auger. Modificado de (Schlotz R. & Uhlig S. 2006)

La fracción de todas las excitaciones de la capa interna que conducen a la fluorescencia de rayos X en la transición se llama Rendimiento de Fluorescencia ω . Depende del nivel de energía involucrado y de la carga nuclear Z del átomo. Para $Z < 30$ el proceso Auger es dominante, para $Z > 60$ El rendimiento de fluorescencia alcanza el 90%, si la excitación comienza desde la capa K. (Wolfgang Demtröder. 2006)

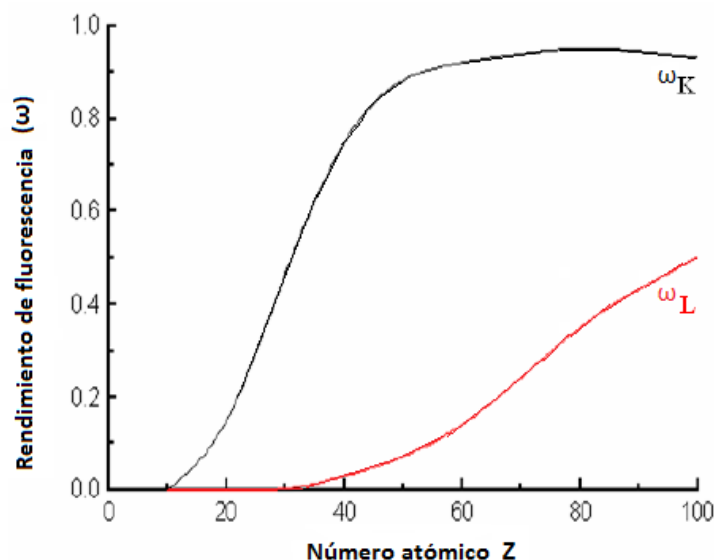


Figura 13. Rendimiento de fluorescencia vs número atómico para líneas K y L. Modificado de (Schlotz R. & Uhlig S. 2006)

1.8 Fluorescencia de Rayos X por dispersión de energía (EDXRF) y por dispersión de longitud de onda (WDXRF)

Antes de pasar a describir la instrumentación que se usara en esta investigación, es conveniente hacer una comparación entre las técnicas de instrumentación WDXRF y EDXRF. La energía de los fotones aumenta a medida que la longitud de onda disminuye, por lo que en un espectro EDXRF los elementos de números atómicos bajos están a la izquierda mientras que están a la derecha de un espectro WDXRF. Pero la diferencia va mucho más allá de eso.

1.8.1 WDXRF.

El analizador WDXRF utiliza una fuente de rayos X para excitar una muestra. Un cristal u otro dispositivo de difracción se colocan en el camino de los rayos X que salen de la muestra. Un detector de rayos X es ubicado donde pueda detectar los rayos X que se difractan y dispersan fuera del cristal. Dependiendo de la separación entre los átomos de la red cristalina (dispositivo de difracción) y su ángulo θ entre la muestra y el detector, longitudes de onda específicas dirigidas hacia el detector pueden ser controladas. El ángulo θ se puede cambiar con el fin de medir los elementos secuencialmente, o múltiples cristales y detectores pueden ser arreglados para hacer un análisis simultáneo. (Schlotz R. & Uhlig S. 2006)

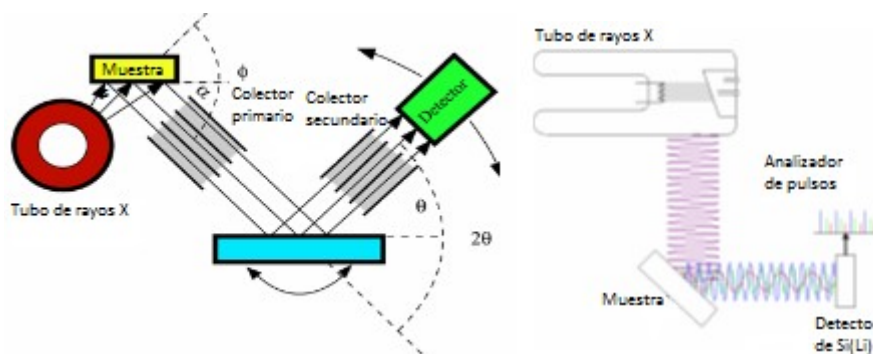


Figura 14: Espectrómetros de rayos X de dispersión de longitud de onda (izquierda) y dispersión de energía (derecha). Modificado de (José Todolí. 2013)

1.8.2 EDXRF.

El analizador EDXRF también utiliza una fuente de rayos X para excitar la muestra, pero se puede configurar de dos maneras. La primera es excitación directa donde el haz de rayos X se dirige directamente a la muestra. Se pueden colocar filtros de varios elementos entre la fuente y la muestra para aumentar la excitación del elemento de interés o reducir el fondo en la región de interés. La segunda manera utiliza un objetivo secundario, donde la fuente apunta al target, el elemento del target se excita y emite fluorescencia, y luego la fluorescencia del target se utiliza para excitar la muestra. Un detector está posicionado para medir los rayos X fluorescentes y dispersados de la muestra y un analizador multicanal y software asigna a cada pulso del detector un valor de energía produciendo así un espectro. (Schlotz R. & Uhlig S. 2006)

1.9 Fluorescencia de Rayos X por Reflexión Total (FRXT).

La reflexión total de los Rayos X es similar a la de la luz, en el sentido que ambas son un tipo de radiación electromagnética y por consiguiente obedecen los mismos postulados de la óptica geométrica. En óptica de la luz, reflexión total es un efecto por el cual la luz, al pasar de un medio ópticamente más denso (índice de refracción más elevado) a un medio ópticamente más sutil, es reflejada de nuevo hacia el material con el índice de refracción más elevado, siempre y cuando el ángulo de incidencia en la capa límite no supere un determinado ángulo crítico α_{crit} .

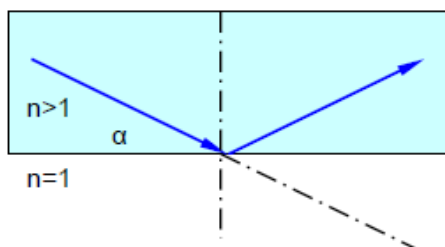


Figura 15: Reflexión total de la luz. (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012)

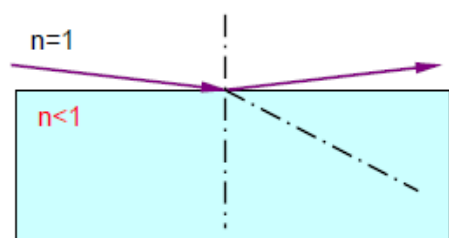
$$\cos \alpha_{crit} = n1/n2 \quad (1.3)$$

α_{crit} : Ángulo crítico de la reflexión total

$n1$: índice de refracción del material ópticamente más sutil. (Por ejemplo aire: $n = 1$)

$n2$: índice de refracción del material ópticamente más denso. (Por ejemplo cuarzo: $n = 1.544$)

Para la luz, los materiales son ópticamente más densos que el vacío/aire, es decir, el índice de refracción es > 1 . Por lo que la reflexión total solo puede darse al pasar la luz del medio al vacío/aire.



Para la radiación X, todo material es ópticamente más sutil que el vacío, es decir, el índice de refracción es < 1 . Por lo que la reflexión total se dará en el vacío, es decir, al pasar los rayos X del vacío/aire al material.

Lo expuesto anteriormente conlleva a que los ángulos críticos sean considerablemente menores que en la óptica de la luz.

Figura 16: Reflexión total de los Rayos X. (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012)

Por lo que se ha mencionado anteriormente, se entiende que el índice de refracción n es un parámetro decisivo a la hora de deducir las trayectorias que seguirán los haces de radiación reflejados y refractados.

El índice de refracción para los rayos X es un índice complejo. La idea básica para explicar esta diferencia con respecto a la luz, es la siguiente: se parte del hecho que los electrones enlazados al átomo, de manera cuasi-elástica, perciben el campo eléctrico oscilante de los fotones de rayos X y resuenan por la interacción con el haz primario. Como resultado, los electrones oscilantes, radian un fotón con una determinada diferencia de fase. La superposición de ambas radiaciones, altera la velocidad de fase de la radiación primaria. Esta alteración se traduce en una aparente modificación del índice de refracción, variando de su valor en el vacío $n_{vac} = 1$, en una pequeña cantidad δ . (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012)

$$n^* = 1 - \delta \quad (1.4)$$

n^* constituye la parte real de n . Si la absorción no puede ser despreciada debe de tenerse en cuenta, de modo que el índice de refracción tiene que escribirse como una cantidad compleja. Convencionalmente, el índice de refracción n se define como:

$$n = n^* - i\beta \quad (1.5)$$

Entonces δ indica la dispersión de los rayos X y β es una medida de la atenuación, ambos dependen de la longitud de onda de la radiación incidente:

$$\beta = \frac{\lambda}{4\pi} \cdot \mu \quad \delta = \frac{N_A}{2\pi} r \rho \frac{Z}{A} \lambda^2 \quad (1.6)$$

μ es el coeficiente de absorción másico, N_A es el número de Avogadro, r es el radio del electrón, ρ es la densidad del material, Z es el número atómico y A es el número másico. Para los rayos X, δ y β tienen valores muy pequeños, δ es del orden de 10^{-6} y β es aún menor. Por lo tanto, la parte real de n es siempre menor que 1, ya que los rayos X inciden desde el vacío (o aire) y sufrirán refracción al atravesar la interfase entre el aire y el material. (Valentinuzzi M. 2008).

Por tanto, en los rayos X, reflexión total es un efecto por el cual los rayos X, al pasar de un medio ópticamente más denso (índice de refracción más elevado) a un medio ópticamente más sutil, es reflejada de nuevo hacia el material con el índice de refracción más elevado. $n_1 = n^*$ y $n_2 = 1$. De la ec. 1.3 resulta:

$$\cos \alpha_{\text{crit}} = 1 - \delta \quad (1.7)$$

Desarrollando en serie el coseno, para valores pequeños del ángulo crítico, se tiene:

$$\alpha_{\text{crit}} = \sqrt{2\delta} \quad (1.8)$$

Sustituyendo el valor de δ en la ecuación anterior, el ángulo crítico puede escribirse como:

$$\alpha_{\text{crit}} \approx \frac{1.65}{E} \sqrt{\frac{Z}{A}} \rho \quad (1.9)$$

De dicha ecuación, se pueden concluir dos puntos importantes:

Los fotones con determinada energía, son reflejados solo bajo cierto ángulo llamado: ángulo crítico.

Un reflector colocado a cierto ángulo, solo puede reflejar fotones cuya energía cumpla con la condición de reflexión total.

1.9.1 Fluorescencia de Rayos X por Dispersión de Energía y por Reflexión Total (FRX y FRXT)

La Fluorescencia de Rayos X por Reflexión Total (FRXT) es un método basado en la dispersión de energía, pero con una geometría de excitación especial. En el caso de Fluorescencia de Rayos X por Dispersión de Energía (FRX), el haz de rayos X primario se encuentra a un ángulo de 45° con respecto a la muestra. Y normalmente el detector se posiciona igualmente a 45° de la superficie de muestra. En FRXT, el haz de rayos X primario se encuentra a un ángulo menor o igual al ángulo crítico (unos cuantos miliradianes) para la reflexión total del portador de la muestra. Con este arreglo geométrico, los rayos X levemente alcanzan a penetrar el portador de muestras y por tanto la contribución de la radiación primaria dispersada es minimizada. La muestra es doblemente excitada: por el haz de rayos X primario y el reflejado, por tanto la señal fluorescente es prácticamente el doble de intensa que en la forma de excitación en un arreglo convencional de FRX por dispersión de energía. (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012)



Figura 17: Fluorescencia de rayos X por Dispersión de Energía (izquierda) y por Reflexión Total (derecha).

Las principales ventajas del uso de la técnica FRXT son:

Debido a la reflexión total de los fotones incidentes, solo una pequeña parte del haz primario penetra en el portador de la muestra. Esto trae como resultado una reducción considerable de la contribución espectral del “background” (o ruido de fondo), que se produce por efectos de dispersión en la muestra. (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012)

Puesto que el haz incidente es totalmente reflejado desde el portador de la muestra, la muestra es excitada por ambos: el haz incidente y el haz reflejado, lo que resulta en una doble intensidad de fluorescencia. (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012)

La geometría extremadamente particular que posiciona a la radiación primaria de manera (casi paralela) rasante, permite ubicar al detector más cerca de la superficie de la muestra. Esto permite un ángulo sólido grande, lo que mejora los límites de detección de la técnica.

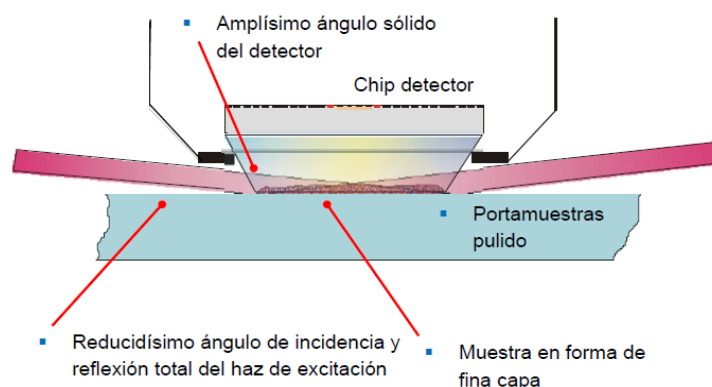


Figura 18: Particularidades geométricas más importantes de la técnica FRXT (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012)

La técnica de FRXT requiere solamente una gota de la muestra, la cual puede ser tratada por medio de digestiones ácidas o simplemente ser disuelta en un solvente, para luego ser medida. Una gota del sustrato es colocada en el portador (plexiglás o cuarzo). Después de que el solvente se evapora, solamente queda una capa muy fina de la muestra. Debido a esto, los efectos matriciales causados por la dispersión (Dispersión de Compton y Dispersión de Rayleigh) son reducidos enormemente, tanto, que en la práctica son despreciados por completo. (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012)

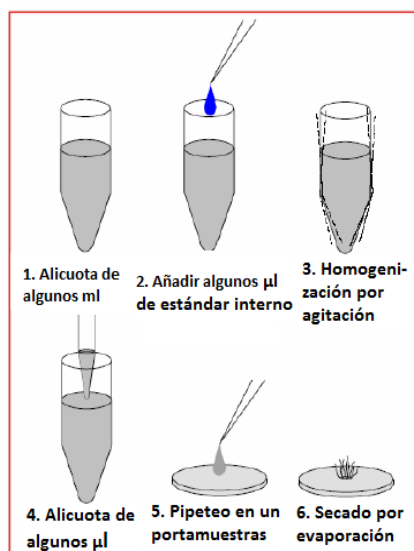


Figura 19: Pasos de la preparación para análisis FRXT (Schlotz R. & Uhlig S. 2006)

1.10 Distribución espacial de concentraciones

La variabilidad espacial de las concentraciones de metales pesados en suelos puede ser estudiada por medio de técnicas geoestadísticas en sistemas de información geográfica (SIG). Se elaboran mapas por medio de interpolación geográfica o bien únicamente por distribución espacial superficial de los niveles de concentración.

Un SIG es una herramienta que permite la integración de datos espaciales y la implementación de diversas técnicas de análisis espacial. De entre estas herramientas, destacan los métodos de interpolación, procedimientos para predecir un valor en sitios donde no se ha muestreado, convirtiendo observaciones puntuales a superficies continuas. Basándose en los valores obtenidos en los puntos muestreados. (Coaguila D. et al. 2013)

Con el propósito de alcanzar la mayor precisión en la interpolación geográfica, se hace necesario llevar a cabo un análisis geoestadístico para conocer la relación entre los datos obtenidos, dependencia espacial, modelo de interpolación y otros parámetros que tomen en cuenta posibles errores del modelaje. (Rodríguez J. & Corbí M. 2007)

La toma de muestras, por muy extensa que se planea desarrollar, siempre tendría un límite en la densidad superficial, proporcionando datos precisos únicamente en los sitios puntuales donde se extraen las muestras. Los métodos geoestadísticos pueden utilizar varios procedimientos de interpolación, entre ellos uno de los más utilizados es el Kriging (Arauz D. et al. 2013), incluido en la mayoría de los SIG. Se considera que es uno de los que genera los resultados más próximos a las observaciones reales, aunque la inclusión de variables auxiliares mejora las estimaciones.

El método Kriging, es un método analítico, donde la función de interpolación depende de la autocorrelación espacial de la variable, que se representa en variogramas. Utiliza datos tabulares y su posición geográfica para el cálculo de las interpolaciones. Utilizando el principio de la primera ley geográfica de Tobler, que dice que las unidades de análisis más próximas entre

si son más similares que las unidades más lejanas, el Kriging utiliza funciones matemáticas para añadir más peso en las posiciones más cercanas a los puntos de muestreo y menores pesos en posiciones más distantes, y así crear nuevos puntos interpolados basados en estas combinaciones lineales de datos. Además está basado en optimizar funciones usando autocorrelación espacial (Coaguila D. et al. 2013).

1.11 Métodos de levantamiento de muestras

A nivel genérico existen dos procedimientos para diseñar el muestreo, cada uno de los cuales presenta varios tipos de esquemas. Uno de los procedimientos recibe el calificativo de *orientado* o a juicio del experto, mientras que el otro se denomina procedimiento *aleatorio*. (MINISTERIO DEL AMBIENTE. Perú. 2014)

El muestreo orientado es realizado por el evaluador sobre la base de su experiencia y conocimientos, y es él quien decide en qué lugares del sitio han de ser tomadas las muestras, así como el número total de muestras a tomar. El muestreo aleatorio es probabilístico. En realidad, el nombre puede llevar a pensar que el muestreo es casual o azaroso; pero por el contrario, obedece a normas estrictas basadas en la teoría de la probabilidad. (MINISTERIO DEL AMBIENTE. Perú. 2014)

Ambos procedimientos de muestreo (orientado y aleatorio) llevan asociado lo que se denomina error de muestreo. No obstante, existen diferencias en el tipo de error. En el muestreo orientado el error, surge del propio criterio en el diseño del muestreo. Está implícito, sin que exista posibilidad de estimarlo ni de obtener conclusiones objetivas sobre el muestreo. Contrariamente, en el muestreo aleatorio el error que se genera es probabilístico, y por tanto, puede ser determinado a través de los procedimientos estadísticos pertinentes. (MINISTERIO DEL AMBIENTE. Perú. 2014)

Existen varios procedimientos para realizar un muestreo aleatorio. Se han agrupado en dos categorías: (1) basados en modelos; y (2) basados en diseños aleatorios. (MINISTERIO DEL AMBIENTE. Perú. 2014)

- Procedimientos de muestreo horizontal basados en modelos geoestadísticos:

Estos procedimientos requieren un muestreo previo cuyos resultados se someten a estudio geoestadístico, que consiste en formulación de un variograma (que representa el modelo de variación del parámetro investigado) y en base al mismo, la aplicación de un método Kriging para predecir (interpolación) el valor del parámetro investigado en puntos o unidades no muestreadas. (MINISTERIO DEL AMBIENTE. Perú. 2014)

- Procedimientos basados en diseños aleatorios:

-

- Muestreo aleatorio simple.

Debe ser aplicado, cuando la distribución espacial de contaminantes en un sitio potencialmente contaminado presenta homogeneidad. Se caracteriza porque cualquier punto de muestreo presenta la misma probabilidad de ser seleccionado que los restantes puntos de muestreo. Además, tal probabilidad es independiente entre puntos. La aplicación de este modelo exige que el área de estudio sea dividida en unidades de muestreo, cada una de las cuales será candidata a convertirse en un punto de muestreo. Cada una de estas unidades de muestreo se

le asocia un número, cuya selección será realizada aleatoriamente. De esta manera, la probabilidad de que cada unidad sea muestreada es igual e independiente a la que presentan el resto de unidades de muestreo. (MINISTERIO DEL AMBIENTE. Perú. 2014)

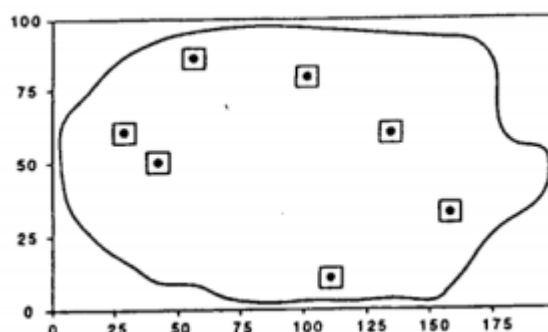


Figura. 20 Muestreo aleatorio simple (MINISTERIO DEL AMBIENTE. Perú. 2014)

➤ Muestreo aleatorio estratificado.

Debe aplicarse para el muestreo de sitios en los que la distribución espacial de contaminantes se presume que no es homogénea (es heterogénea). Deben seleccionarse zonas en las que la distribución sea homogénea. A estas zonas se les denominan estratos, que constituyen subpoblaciones de muestreo dentro de una misma zona (sitio potencialmente contaminado). Luego se realiza un muestreo aleatorio simple en cada una de tales zonas (MINISTERIO DEL AMBIENTE. Perú. 2014)

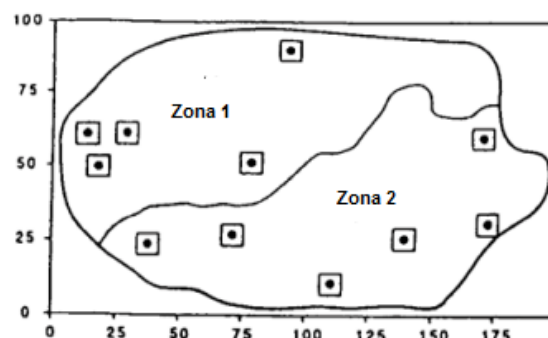


Figura 21. Muestreo aleatorio estratificado (MINISTERIO DEL AMBIENTE. Perú. 2014)

➤ Muestreo aleatorio sistemático

Los puntos de muestreo son localizados a una distancia fija de un primer punto de muestreo aleatorio. Por tanto, únicamente ese primer punto de muestreo es aleatorio, y todos los demás son localizados a partir de éste. La aplicación de este procedimiento parte de la superposición de una red al área de estudio. Cada unidad de red constituye una unidad de muestreo. (MINISTERIO DEL AMBIENTE. Perú. 2014)

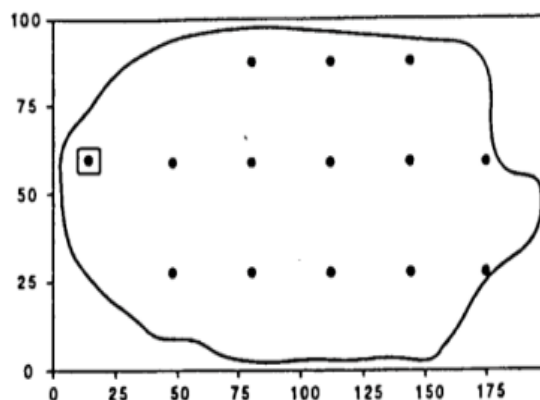


Figura 22. Muestreo aleatorio sistemático (MINISTERIO DEL AMBIENTE. Perú. 2014)

Este procedimiento resulta útil cuando no se tiene evidencia sobre la distribución espacial de los contaminantes en el sitio. No se conoce si existe homogeneidad o heterogeneidad espacial en la distribución espacial de las sustancias contaminantes (MINISTERIO DEL AMBIENTE. Perú. 2014)

➤ Muestreo aleatorio compuesto.

Este procedimiento consiste en tomar varias muestras y mezclarlas para obtener una muestra compuesta, de la cual se determina la concentración de las sustancias contaminantes. Se asume que el valor que se obtiene de la muestra compuesta es una estimación válida de la media que se hubiera obtenido promediando los resultados de las muestras que la componen. Esto es válido sólo si: (1) el volumen muestreado representa una población homogénea, (2) cantidades iguales de cada muestra contribuyen a la muestra compuesta. Como puede pensarse, este tipo de muestreo solamente puede ser aplicado en sitios uniformes y con gran homogeneidad en cuanto a la distribución espacial de contaminantes. De otra forma, puede generarse un error extremadamente grave. (MINISTERIO DEL AMBIENTE. Perú. 2014).

Una vez estudiados los elementos teóricos básicos y pertinentes para esta investigación, mencionando algunos destacables: metales pesados, interacción de la radiación con la materia, fluorescencia de rayos X, métodos de levantamiento de muestra, etc.; se da paso a la descripción de los elementos experimentales que conforman la metodología de esta investigación.

2. METODOLOGÍA

2.1 Muestras de suelo para análisis de laboratorio.

Cada muestra que se tome con miras al análisis de laboratorio debe pesar aproximadamente un kilogramo, excepto cuando se trate de suelos gravosos; en ese caso la muestra debe ser lo suficientemente grande como para contener al menos 100 gramos de suelo fina (partículas de menos de 2 mm de diámetro).

Se debe extraer las piedras y cualquier fragmento grande de materia orgánica como hojas y raíces de las muestras de superficie. Así mismo evitar que se mezclen las muestras de diferentes horizontes.

2.2 Recolección de muestras

La muestra extraída del suelo debe ser representativa. Debe ser tomada e identificada correctamente. Esto es importante para que el análisis posterior que se le efectúe arroje resultados.

Pasos a seguir para obtener una muestra representativa (Raúl Henríquez 2013).

- Seleccionar las herramientas y materiales necesarios a usar. Verificar que estén limpios. Entre estos se tienen: palas, bolsas de plástico para depositar las muestras, libretas, viñetas y otros.
- Delimitar la zona de muestreo en función de las características del suelo: homogeneidad del color, textura, pendiente, drenaje, profundidad de suelo, pedregocidad y sistema de cultivo. El empleo de GPS es necesario e importante para la ubicación y anotación de las coordenadas de los diferentes puntos de muestreo en la zona de estudio.
- Se utilizan las herramientas para hacer la extracción. Se marca aproximadamente un área de un metro cuadrado, se remueve la capa superficial, y se remueven unos 5 cm de suelo, mezclándolo para homogenizar el material y obtener una muestra representativa. Por último se extrae alrededor de dos libras del suelo suelto y se introduce en una bolsa con cierre tipo ziploc, identificando la muestra con un código en específico.

2.3 Preparación de las muestras

Las muestras de suelo extraídas, debido a su naturaleza, antes de ser medida deben pasar por un tratamiento que debe ser rápido, simple y reproducible. Básicamente se trata de un proceso mecánico que consiste en secado y pulverizado de las muestras para la posterior fabricación del analito. El procedimiento a seguir es el siguiente:

- Secado de las muestras de suelo al aire libre.
- Medición del PH

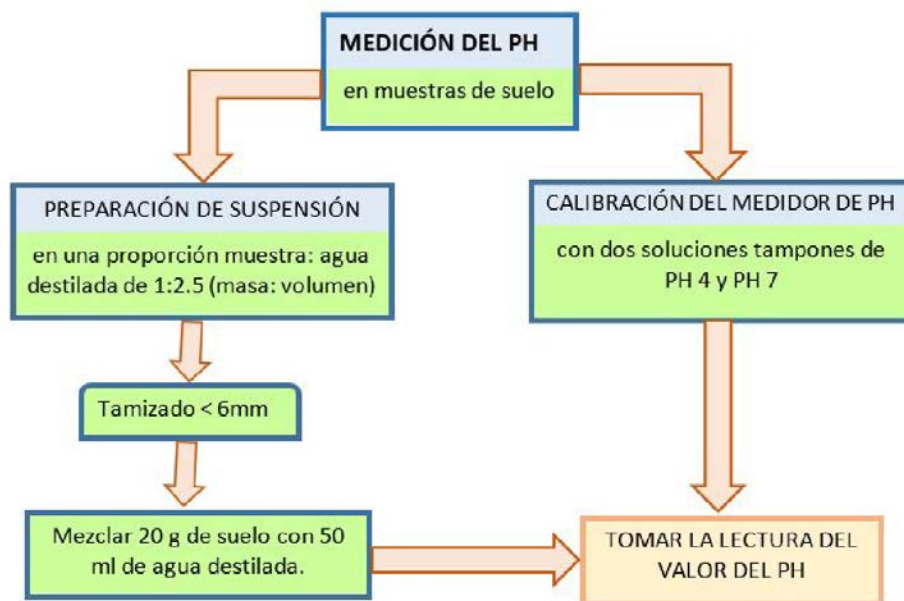


Figura 23: Protocolo para medir el PH en muestras de suelo

En el análisis por TXRF, las muestras sólidas se pueden analizar cuantitativamente después de una molienda y suspensión sin pasar por el proceso de digestión ácida. Previo al proceso de suspensión debe seguirse un protocolo para obtener una muestra de laboratorio.

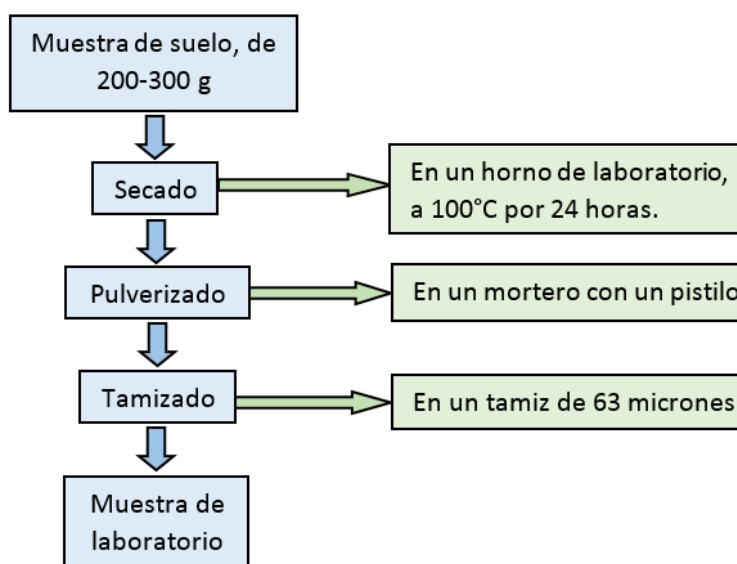


Figura 24: Tratamiento del suelo previo a la preparación de las muestras de laboratorio

Existen ciertas reglas generales para la preparación de muestras para análisis de TXRF (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012):

- Siliconización de los portamuestras: Puede ser necesario cuando se trata de muestras acuosas. Se debe pipetear una gota de una solución de silicón y dejar secar. Se formará una superficie hidrofóbica que evitara que la muestra se esparza.

- Preparación de la muestra en los portamuestras: Se pipetea una gota de la muestra en el centro del portamuestras y se deja secar. Dicho punto no debería exceder una altura de 100 μm y un diámetro de 10 mm. (Ácidos necesitan ser evaporados completamente)
- Secado de las muestras: Esto puede lograrse por vacío en un desecador, por calor en una estufa a 60°C o en un hot plate y evitando la contaminación cubriendo los portadores con un disco de Petri.
- Recipientes de muestra y reactivos: Evitar el uso de tubos y guantes de colores, los cuales podrían contener trazas de metales. Es mejor utilizar recipiente reutilizables de PTFE. Se puede utilizar el alcohol polivinilo PVA para la formación de películas firmes y homogéneas.

Para análisis TXRF la muestra debe estar en forma de dilución. Para una muestra geológica, esto puede lograrse a través de una digestión ácida o sin ella.

Para la mayoría de las tareas analíticas, la digestión de la muestra puede ser evitada y la preparación de la muestra puede reducirse a unos pocos pasos simples.

Dilución de la muestra geológica sin digestión ácida. (Hagen Stosnach. 2013)

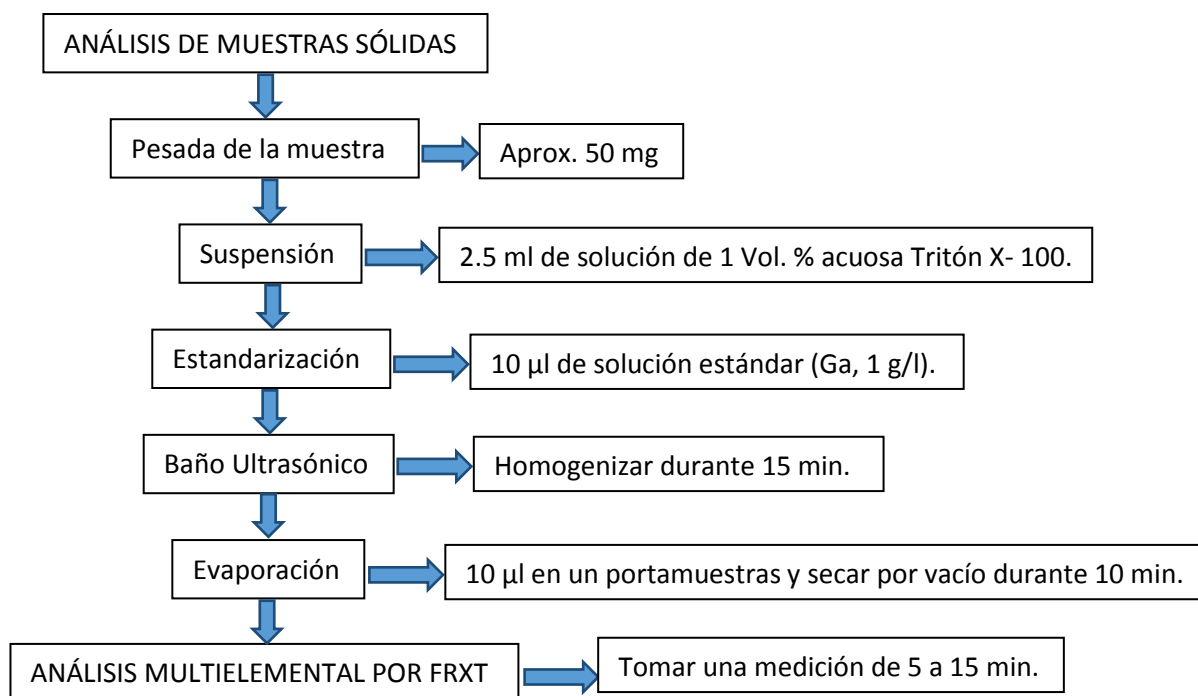


Figura 25: Tratamiento del suelo previo al análisis de medición.

En la preparación de muestras para TXRF hay una serie de restricciones que es conveniente respetar:

Solo si la muestra se prepara en forma de una fina capa < 100 μm , se cumplen los requisitos para la cuantificación con un estándar interno.

En casos excepcionales, para análisis puramente cualitativos (por ejemplo, micropartículas) pueden prepararse también muestras con un espesor máximo de hasta 0.5 mm. Muestras de mayor espesor pueden provocar daños a la ventana del detector.

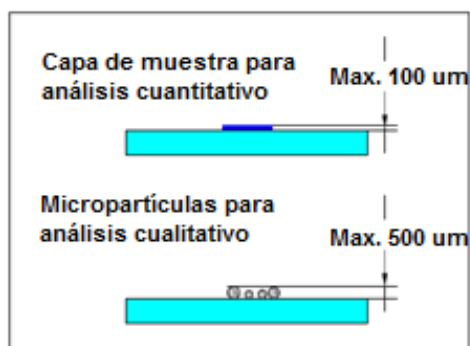


Figura 26: Espesor de la muestra requerido para análisis FRXT. (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012):

El diámetro de la mancha de muestra sobre el portamuestras no puede superar los 10 mm. La presencia de impurezas en la parte externa del disco puede provocar contaminación.

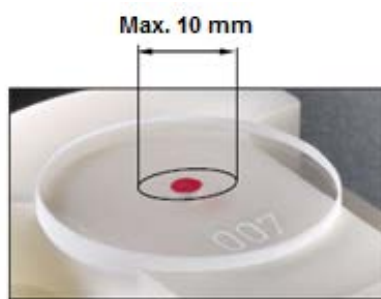


Figura 27: Diámetro de la mancha de muestra requerido para análisis FRXT (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012):

2.4 Instrumentación

Tabla 3: Parámetros técnicos importantes del Equipo de FRXT (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012):

Equipo	Especificación
Analizador multicanal	4096 canales.
Detector	SDD (Silicon Drift Detector): Detector de Deriva de Silicio
Resolución Mn K α	<160 eV
Tubo de rayos X	Objetivo de Molibdeno
Óptica de rayos X	Monocromador multicapa

2.4.1 Portamuestras.

En la FRXT, el portamuestras desempeña un papel fundamental en la obtención de resultados óptimos del análisis. Por este motivo, debe cumplir requisitos específicos.

- Se utilizan medidas estándar habituales: Un diámetro de 30 mm y un espesor de 3 mm (± 0.1 mm)
- Deben ser lo más puros que resulte posible desde el punto de vista químico.
- La superficie del portador debe estar pulida, como mínimo, con calidad óptica.

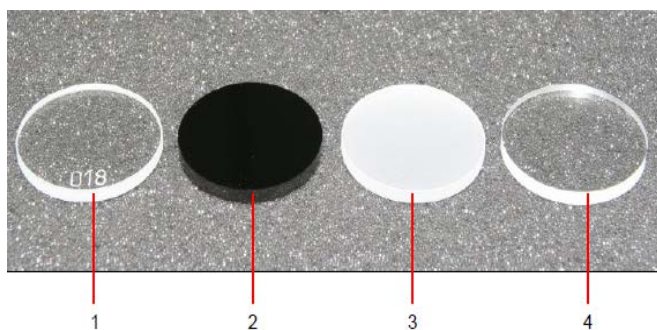


Figura 28. Clases de portamuestras (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012

Existen actualmente diferentes tipos de porta-muestras, algunos con mejor calidad que otros.

1. Cuarzo
2. Cristal al carbono
3. Zafiro
4. Cristal acrílico

Tabla 4. Tipos de portamuestras.

TIPO	VENTAJAS	DESVENTAJAS
Cuarzo	<ul style="list-style-type: none"> - Muy puro. - Muy duro. - Ruido de fondo leve. 	<ul style="list-style-type: none"> - "Si" como valor en blanco. - No es estable al fluoruro de hidrógeno. - Requiere reactivos de calidad y un proceso considerable de limpieza.
Cristal al carbono	<ul style="list-style-type: none"> - No se observa línea de fluorescencia del material. - Electroconductor. 	<ul style="list-style-type: none"> - Fondo más elevado. - Costoso. - Más difícil de pulir
Zafiro	<ul style="list-style-type: none"> - Químicamente muy estable. - De larga vida. 	<ul style="list-style-type: none"> - "Al" como valor en blanco. - Costoso
Plexiglás	<ul style="list-style-type: none"> - Adquisición económica. - Apenas presenta valores en blanco. - Pueden ser desechables. 	<ul style="list-style-type: none"> - Fondo elevado. - A menudo "S" como valor en blanco.

2.4.2 Fuente de excitación de rayos X

Para producir fluorescencia de rayos X, las muestras serán excitadas con rayos X provenientes de una fuente de excitación directa de un tubo de rayos X. Consiste básicamente en un tubo de vidrio sellado al vacío que contiene un filamento de un material adecuado para la producción de electrones por emisión termoiónica, un ánodo y una ventana de berilio. Se aceleran los electrones en un campo eléctrico y desaceleran en un ánodo. La región donde los electrones se desplazan debe ser evacuada para que estos no choquen con moléculas de gas. Por eso, es necesario construir un vacío en el tubo. Los rayos X escapan del tubo en un punto especial que es particularmente transparente con una ventana de berilio. Un esquema de este tubo de rayos X es el siguiente (Schlotz R. & Uhlig S. 2006):

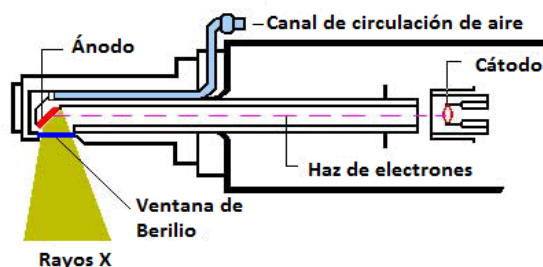


Figura 29: Tubo de rayos X con ventana lateral. Modificado de (Bounakhla M. & Tahri M. 2006)

El tubo de rayos X a utilizar es un tubo de cerámica metálica refrigerado por aire, con cátodo de wolframio puesto a tierra. El ánodo de molibdeno tiene alta tensión positiva. Para la pérdida de calor se utiliza un disipador de calor de cobre. En dirección al monocromador hay una abertura de 3 mm para la salida de la radiación efectiva. Con el objeto de garantizar una refrigeración lo más efectiva posible, el tubo de rayos X está rodeado por un canal de circulación con ventilador.

Se genera radiación X con una energía máxima de 50 keV a una potencia máxima de 50 W. Posee un voltaje máximo de 50 kV y una corriente máxima de 1000 μA . La ventana de berilio se encuentra a un lado del tubo, con un espesor de 100 μm y una mancha focal de 1.2 x 0.1 mm^2 . (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012):

2.4.3 Detector de semiconductor.

La determinación selectiva de elementos en una mezcla, utilizando espectrometría de rayos X, depende de la resolución de las líneas espectrales emitidas por los distintos elementos en componentes separados. Este proceso requiere alguna forma de clasificación de energía o dispositivo de dispersión de longitud de onda. La espectrometría de energía dispersiva de rayos X se basa en la capacidad del detector para crear señales proporcionales a la energía del fotón de rayos X. La radiación X característica emitida por la muestra llega a un detector semiconductor tipo SDD por sus siglas en inglés: Silicon Drift Detector. (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012):

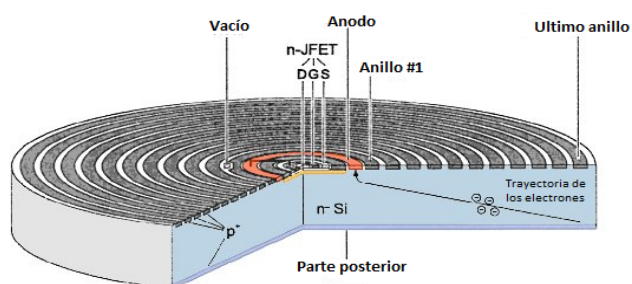


Figura 30: Sección transversal de un Detector de Deriva de Silicio (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012)

Al llegar la radiación (Rayos X en este caso con energía $h\nu$) proveniente de la muestra hasta el detector, se generan portadores de carga: electrones de la banda de valencia pasan a la banda de conducción y viceversa, hasta que se logra un equilibrio entre esta corriente de difusión y

una corriente de arrastre generada por el campo eléctrico E que se ha formado debido a cargas que se encuentran fijas. Estos pares electrón-hueco se equilibran en una zona cercana a la unión. Pueden ser desviados (drift), si se aplica un campo de alta tensión, y ser conducidos en una sola dirección dependiendo de la polarización. Son dirigidos hacia un electrodo para producir impulsos de carga que son amplificados (por un transistor JFET) y pasan por un procesamiento de señal digital para convertirlos en un voltaje de salida $U(t)$. (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012):

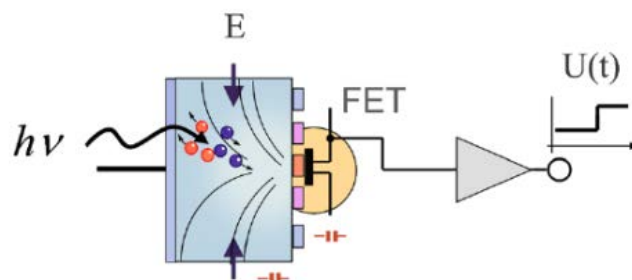


Figura 31: Principio del Detector de Deriva de Silicio. (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012):

2.5 Arreglo experimental

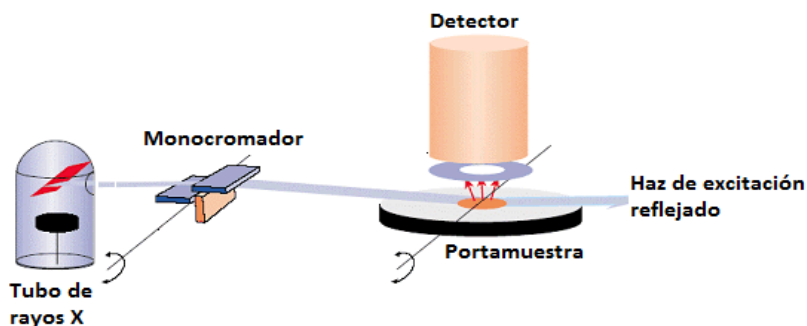


Figura 32: Diagrama del arreglo experimental. Modificado de (Schlotz R. & Uhlig S. 2006)

Los fotones de la fuente irradian la muestra. Los átomos en la muestra son excitados, y luego se desexcitan por la emisión de rayos X con energías propias de los elementos en la muestra. Las intensidades están relacionadas con la concentración de cada elemento en la muestra y con las probabilidades de excitación. Los rayos X característicos interactúan en el detector. Cada rayo X libera un pulso de carga, proporcional a la energía depositada. La electrónica de procesamiento de señales mide la carga total (la energía total) de cada pulso, es decir, de cada uno de los fotones de rayos X individuales; hace una suma de los resultados de todas las interacciones en un histograma, que muestra el número de eventos en cada una de las energías (espectro de energía). Los picos en el espectro corresponden a los elementos de la muestra. El número de los fotones de rayos X en cada pico es proporcional al número de átomos. El software de análisis en la PC detecta qué picos están presentes, encuentra la intensidad de cada pico, y calcula la concentración de cada elemento en la muestra.

2.6 Análisis cualitativo y cuantitativo

Para hacer el análisis cualitativo en una muestra, es necesario conocer las energías de las principales líneas de emisión de los elementos que se pretenden identificar. Por ejemplo, para algunos metales pesados, los valores de energías se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 5: Líneas de emisión (keV) de algunos metales pesados.

Elemento	K α 1 (keV)	K β 1 (keV)	L α 1 (keV)	L β 1 (keV)
Cr (24)	5.41	5.95	0.57	0.58
Ni (28)	7.48	8.26	0.85	0.87
Cu (29)	8.05	8.90	0.93	0.95
Zn (30)	8.64	9.57	1.01	1.03
As (33)	10.54	11.73	1.28	1.32
Cd (48)	23.17	26.09	3.13	3.32
Hg (80)	70.82	80.26	9.99	11.82
Pb (82)	74.96	84.92	10.55	12.61

El análisis cuantitativo relaciona la intensidad neta de cada pico con la concentración en la muestra. Después de haber identificado las líneas características, se busca medir su intensidad para determinar la concentración de cada elemento. Como primera aproximación, puede esperarse que la relación entre intensidad y concentración sea lineal, es decir que cada átomo tenga la misma probabilidad de ser excitado y de emitir un fotón característico. (Valentinuzzi M. 2008)

$$I_i = S_i C_i \quad (2.1)$$

I_i : Intensidad de la línea fluorescente correspondiente al elemento i

C_i : Concentración del elemento i en la muestra

S_i : Constante que depende de factores como: intensidad y forma del haz primario, probabilidad de un átomo del elemento i de emitir un fotón característico, probabilidad de que ese fotón sea detectado.

Teniendo en cuenta el background, la ecuación anterior queda así:

$$I_i = S_i C_i + B \quad (2.2)$$

B : Intensidad medida cuando $C_i = 0$

Escribiendo la concentración en función de intensidad:

$$C_i = s_i I_i + b \quad (2.3)$$

s_i es llamada sensibilidad y se expresa en cuentas por segundo por concentración.

Para obtener esta curva dada una muestra, se fabrican varias muestras de composición similar pero con diferentes concentraciones y se mide la intensidad de la línea característica del elemento de interés en cada una de ellas. (Valentinuzzi M. 2008)

Pero debido a efectos de matriz, la curva que relaciona intensidad con concentración no siempre es una línea recta

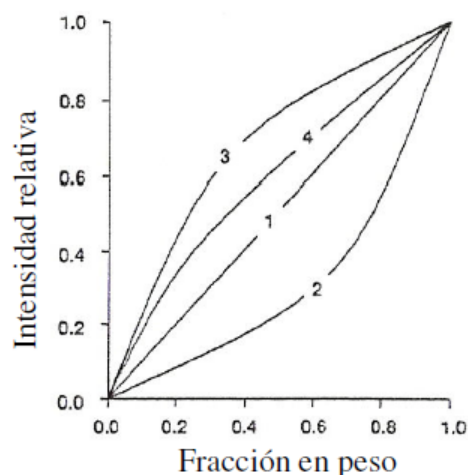


Figura 33: Ejemplos de curvas de calibración: 1. Sin efectos matriciales. 2 y 3. Con efectos de absorción. 4. Con efectos de reforzamiento. (Valentinuzzi M. 2008)

En FRXT se reducen los efectos matriciales: de reforzamiento y absorción, las curvas de

Intensidad en función de la concentración son líneas rectas, cuya pendiente define la sensibilidad. Ladisich W. et al. (1994)

$$S_i = \frac{I_i}{C_i} \quad (2.4)$$

Por tal razón, la base para el proceso de cuantificación en FRXT es conocer las sensibilidades elementales relativas S_i del espectro medido. Se tratan de valores numéricos adimensionales que indican qué relación guardan entre sí las intensidades pico de los distintos elementos individuales en referencia a la cantidad de muestra. Las sensibilidades elementales se refieren a una determinada línea o grupo de líneas con las cuales se cuantificará el elemento. Por regla general, se utiliza la $K_{\alpha 1,2}$ para la serie K y la $L_{\alpha 1}$ para la serie L. (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012):

Para determinar concentraciones puede lograrse mediante el uso de estándares internos: se agrega a la muestra una cantidad conocida de un dado elemento llamado patrón; que debe cumplir ciertos requisitos:

- El estándar debe ser agregado en una proporción similar a la del elemento a estudiar
- Debe tener número atómico próximo al de los elementos de interés.
- Debe ser homogéneo en la muestra.

Cuando se añade un elemento como estándar interno C_{ei} para un elemento i , su concentración C_i es:

$$\frac{C_i}{C_{ei}} = \frac{I_i}{I_{ei}} \quad (2.5)$$

Las sensibilidades de elementos relativas pueden determinarse de una forma conveniente midiendo una solución multielemental con concentraciones de elementos conocidas mediante cálculo de los factores de sensibilidad, que se basan en el valor de la concentración de cada elemento. (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012):

En conclusión, se pretende encontrar la razón entre las sensibilidades del elemento patrón o estándar interno y los elementos desconocidos: S_i/S_{ei}

Finalmente La sensibilidad de un determinado elemento S_i con la concentración C_i puede determinarse por la siguiente fórmula.

$$S_i = \frac{I_i \cdot C_{ei}}{I_{ei} \cdot C_i} S_{ei} \quad (2.6)$$

En base a las sensibilidades elementales, se puede comprender el proceso de cuantificación con estándar interno. Una de las ventajas inherentes en FRXT mencionada anteriormente, es que se trata con muestras finas de modo que la conversión simple de las intensidades fluorescentes I en los datos de concentración C es aplicable, ya que existe una correlación lineal entre I y C, como ya se estudió anteriormente.

Después de establecer una curva de calibración de sensibilidades con estándares multielementales conocidos teóricamente, la conversión de I en C se realiza inmediatamente con la adición de un elemento como estándar interno de concentración conocida en la muestra, esto mejora la precisión de los resultados, ya que los errores geométricos y volumétricos se cancelan. Von Bohlen. (2004)

Este tipo de cuantificación se puede utilizar para muestras líquidas, muestras digeridas y suspensiones. La concentración de los distintos elementos se calcula de la siguiente manera:

$$C_i = \frac{I_i \cdot S_{ei}}{I_{ei} \cdot S_i} C_{ei} \quad (2.7)$$

I_i : Número de impulsos neto de un elemento a analizar en el espectro de medición

I_{ei} : Número de impulsos neto del estándar interno en el espectro de medición

S_i : Sensibilidad del elemento i

S_{ei} : Sensibilidad del elemento estándar interno

C_i : Concentración del elemento a analizar

C_{ei} : Concentración del estándar interno

A un elemento, por ejemplo Ga, se le asigna aleatoriamente la sensibilidad 1 y las sensibilidades de los restantes elementos se pueden hallar, por ejemplo, midiendo mezclas de sustancias con dicho elemento. Las sensibilidades elementales relativas únicamente son válidas para las correspondientes medidas hechas bajo esa configuración. Cualesquiera modificaciones en la variante de excitación y en el detector darán como resultado nuevas sensibilidades elementales. (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012):

2.7 Límites de detección

Uno de los criterios de rendimiento más importantes para un instrumento de medición en el análisis multielemental es la concentración mínima, pero demostrable, de un elemento en la muestra, es decir, la concentración a partir de la cual se puede afirmar con una determinada certeza estadística si el elemento se encuentra o no en la muestra.

Dado que los elementos se identifican y cuantifican por medio de su pico de fluorescencia, la definición del límite de detección se basa en una observación estadística de la superficie del pico y del fondo espectral situado por debajo. Para ello, se parte de la base de que el elemento se considera identificado cuando la superficie del pico del elemento es tres veces mayor que la estadística de recuento del fondo. A este procedimiento se lo conoce también con el nombre de Criterio 3 Sigma. (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012):

$$LD = \frac{3C_i}{N_i} \cdot \sqrt{\frac{N_{BG}}{t}} \quad (2.8)$$

Donde:

LD : Límite de detección del elemento i

C_i : Concentración del elemento

N_i : Área del pico de fluorescencia en cuentas

N_{BG} : Área del fondo situado bajo el pico de fluorescencia

t: Tiempo de medida

El límite de detección 3 Sigma se utiliza, más que nada, para realizar sencillas comparaciones de equipos, métodos de medición y resultados de análisis. Sin embargo, su valor práctico es limitado. El límite de detección también es una función del tiempo. A la hora de elegir el tiempo de medición, es necesario encontrar un equilibrio entre la sensibilidad y la productividad del método. No existe una regla general para el tiempo de medición. Por ello, en muchos casos es necesario realizar una medición de prueba para estimar los límites de detección y optimizar el tiempo de medición. (S2 PICOFOX. Manual de usuario. 2012):

3. UBICACIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO

La zona de estudio se encuentra ubicada en el cantón de Guayapa Abajo en el municipio de Jujútla en el departamento de Ahuachapán, El Salvador. El municipio de Jujútla se divide en 13 cantones y tiene un área de 263,95 km² con una población de 29,548 habitantes.

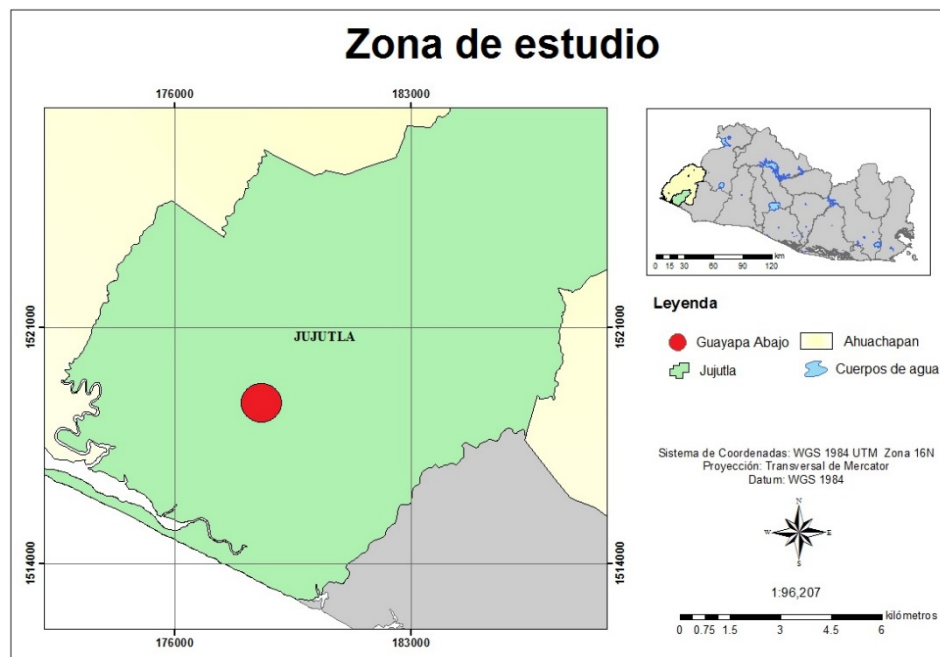


Figura 34: Zona de estudio: Departamento de Ahuachapán, municipio de Jujútla, cantón Guayapa Abajo.

El cantón de Guayapa Abajo consta de varios caseríos, el estudio de contaminación por metales pesados en muestras de suelo, se hará en algunos de estos caseríos, los cuales han sido previamente sugeridos por promotores de salud del Ministerio de Salud, por tener mayores casos de enfermedad renal crónica.

Se realizaron 7 visitas a los diferentes caseríos (Tabla 6), en los que se tomaran aproximadamente 15 muestras de suelo, por cada visita, muestras provenientes de zonas residenciales y de cultivos.

Tabla 6: Lugares de extracción de muestras en Guayapa Abajo

#	Comunidad
1	El Cocalito
2	Faya
3	El Escondido
4	El Carmen
5	El Mango
6	El Someta
7	Cuilapa Abajo
8	La Colonia

4. RESULTADOS

Se han dividido los resultados en 7 partes principalmente. La primera parte trata sobre la extracción y recolección de las muestras, en la segunda parte se abordan aspectos relacionados al tratamiento y preparación de las muestras, en la tercera y cuarta parte se describe el proceso de análisis cualitativo y cuantitativo respectivamente. En la quinta parte se discuten aspectos particulares de una cuantificación de prueba realizada, mientras en la sexta parte se discute la cuantificación de las concentraciones de As, Pb, Ni, Cu y Zn que fueron comparados con los valores permitidos según la Canadian Council of the Ministers of the Environment (CCME). Y en la última parte se muestran los mapas de interpolación espacial para los cinco metales analizados.

4.1 Extracción y recolección de muestras.

Las muestras fueron recolectadas siguiendo el método de muestreo aleatorio simple orientado bajo cierto criterio de conveniencia. Como criterio de muestreo, se hizo uso de una base de datos del Ministerio de Salud (MINSAL), la cual contiene información sobre los hogares de la zona de Guayapa Abajo que cuentan con algún miembro de la familia que padece de Enfermedad Renal Crónica. Entonces, siguiendo la base de datos, se recolectaron muestras de suelos tanto de lugares de residencia como de cultivo de cada familia. Las zonas de cultivos encontradas fueron de maíz, frijol, y caña de azúcar; y las zonas de residencia encontradas fueron el patio o jardín de sus hogares.

En total, fueron extraídas 81 muestras (Ver Anexo 1). Fueron extraídas 66 muestras de las zonas residenciales y 15 muestras de diferentes zonas de cultivos: ocho muestras de cultivo de maíz, 4 muestras de cultivo de frijol y 3 muestras de cultivo de caña de azúcar.

Tabla 7. Número de muestras recolectadas por comunidades.

#	Comunidad	Zona de cultivo	Zona de residencia	Total
1	El Cocalito	3	11	14
2	Faya	3	5	8
3	El Escondido	1	6	7
4	El Carmen	0	15	15
5	El Mango	4	9	13
6	El Someta	2	6	8
7	Cuilapa Abajo	2	5	7
8	La Colonia	0	9	9
	TOTAL	15	66	81

Pueden observarse la distribución de puntos de muestreo en el siguiente mapa:

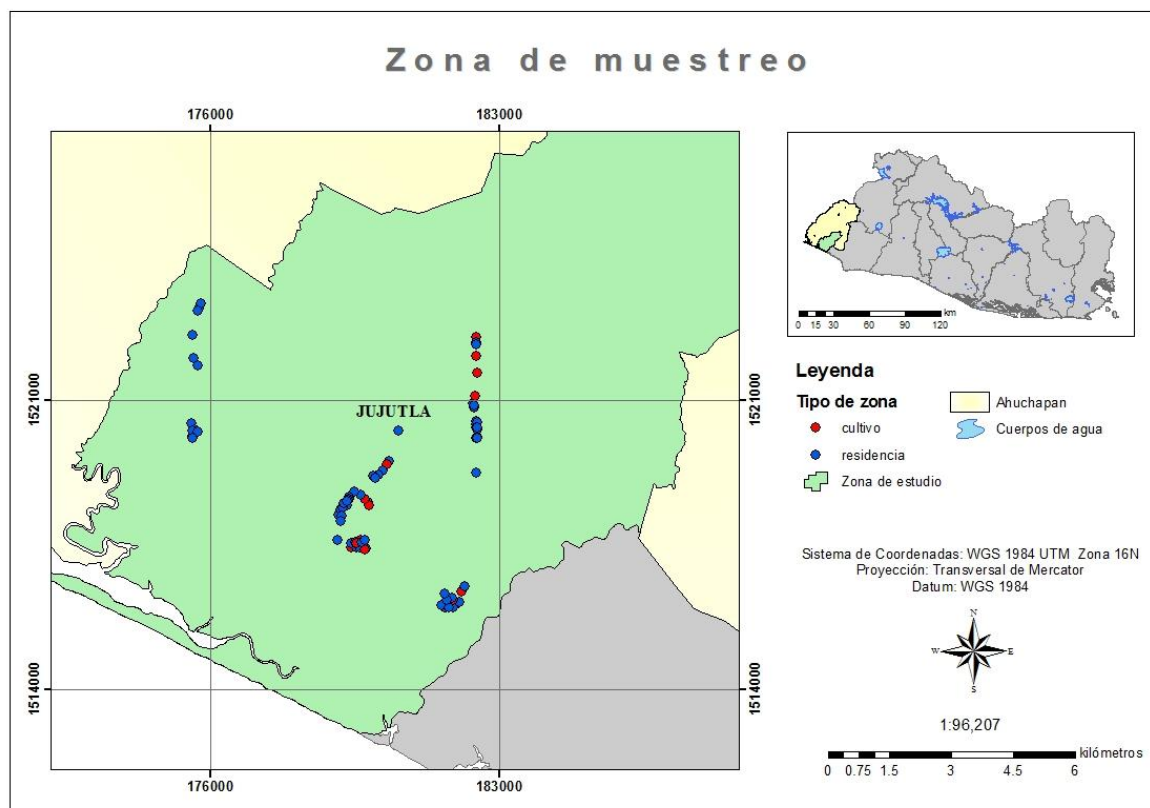


Figura 35: Zona de estudio y los puntos de coordenadas geográficas donde se extrajeron cada una de las muestras de suelo.

4.2 Tratamiento y preparación de muestras.

Primero, cada uno de los suelos extraídos fue almacenado en bolsas herméticas y debidamente identificadas con un código que empezaba con el nombre de la comunidad seguida de la letra A o B y un número secuencial. Las letras corresponden al grupo de muestreo, puesto que se tomaron las muestras en dos grupos en cada comunidad.



Figura 36: Algunas de las 81 muestras de suelo extraídas en la zona de estudio.

Previamente al tratamiento y preparación del analito de estudio, se separó una parte de la muestra de suelo para realizar la medición del pH, siguiendo la metodología descrita anteriormente: haciendo pasar la muestra por un tamiz de tamaño < 6 mm y luego mezclando 20 g de suelo con 50 ml de agua destilada.

A continuación se presentan los valores de pH de las muestras recolectadas (Anexo 1):

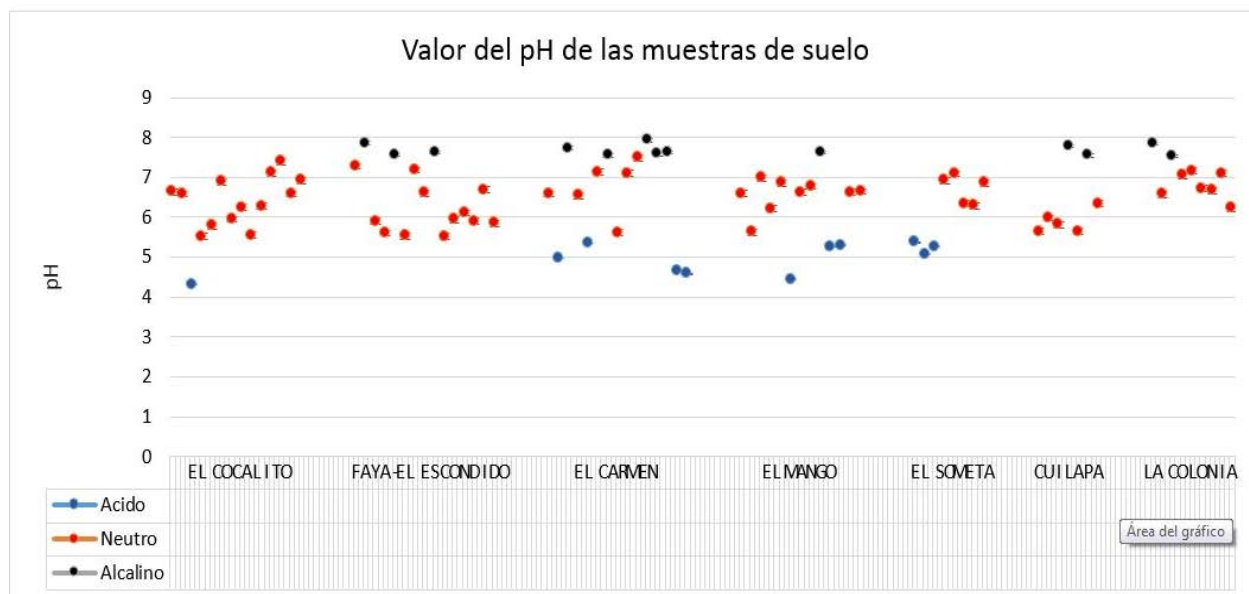


Figura 37: Valores de pH de las muestras recolectadas

En muestras de suelo se ha considerado el rango de 5 a 7 del pH como valores neutros, menor a 5 como valores ácidos y mayor a 7 valores alcalinos.

Después de haber sido secadas, pulverizadas y tamizadas hasta obtener una muestra de laboratorio como se describe en la metodología. Se procedió a fabricar el analito de estudio.



Figura 38: Mortero usado para pulverizar la suelo y tamiz usado para seleccionar granos de 53 micrones.

El analito de estudio consiste en una gota de la suelo diluida depositada en el centro de un porta-muestra circular de plexiglás de 30 mm de diámetro y 3 mm de espesor.

Primero, se pesó aproximadamente 50 mg de muestra y se depositó en un tubo.

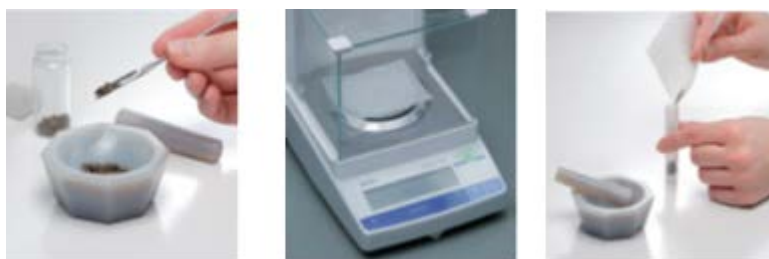


Figura 39: 50 mg de suelo pesado y depositado en un tubo.

Luego, se le añadió 2.5 ml de solución de 1 Vol. % acuosa Tritón X- 100, junto con 10 μ l de solución estándar (Ga, 1 g/l, conc. final. 200 mg/kg) y se homogeneizó en un baño ultrasonido durante 15 minutos.



Figura 40: Añadidura de Tritón X 100 e estándar interno de Galio para posterior homogeneización.

Finalmente, se depositó con una pipeta 10 μ l de la dilución en el centro de un portamuestras y se dejó secar en una placa calefactora durante 10 minutos.



Figura 41: Deposición de la dilución del suelo en un portamuestras.



Figura 42. Diluciones de muestras realizadas contenidas en tubos de plástico de laboratorio y analitos de estudio listos para ser medidos.

Una vez fabricado el analito de estudio, se prosiguió a realizar la toma de los espectros de cada muestra con el equipo de fluorescencia de rayos X por reflexión total. Se realizaron medidas durante un tiempo de 600 segundos (10 min.) por cada muestra.



Figura 43: Casete de porta-muestras siendo introducido en el equipo para la toma de espectros.

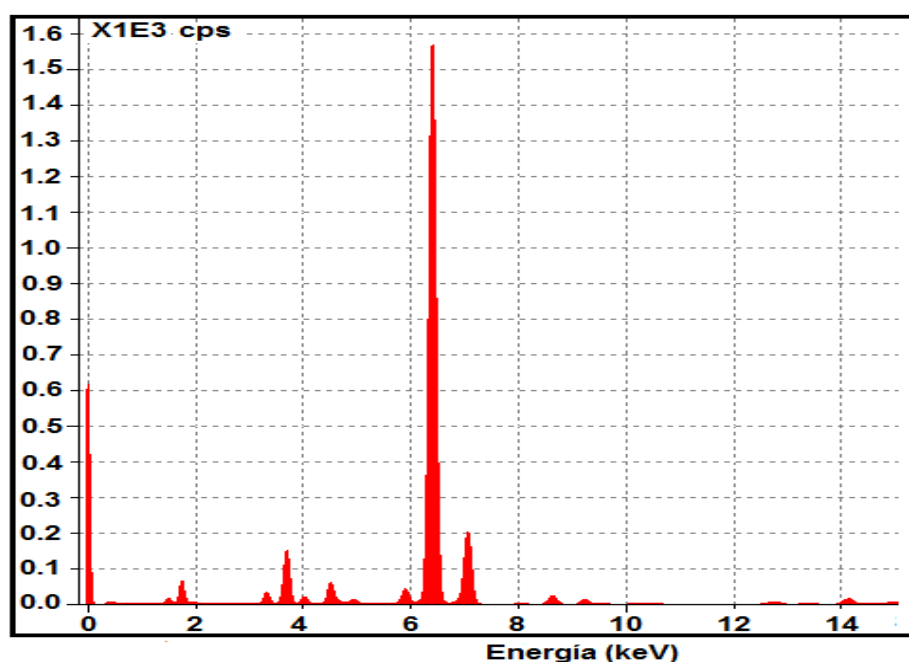


Figura 44: Espectro de líneas características de FRXT de uno de los analitos de estudio hecho con uno de las muestras de suelo (Co B2), con el software del equipo.

4.3 Análisis cualitativo.

Después de la obtención de los 81 espectros de energía para cada analito de estudio con el equipo, estos fueron exportados para ser analizado con el software AXIL (Análisis of X-ray spectra by Iterative Least-squares fitting) que está incluido en el paquete de QXAS.

Se siguió el procedimiento que se describe a continuación.

4.3.1 Formatos de espectros de FRXT:

Los espectros exportados se guardan con extensión *.SPX, formato que depende del software del equipo, estos archivos contienen toda la información de los espectros necesaria para

realizar el análisis cualitativo. Para ser analizados con el software AXIL, estos archivos son transformados a la extensión *.ASC para finalmente ser convertidos a la extensión *.SPE, que es la extensión que necesita AXIL.

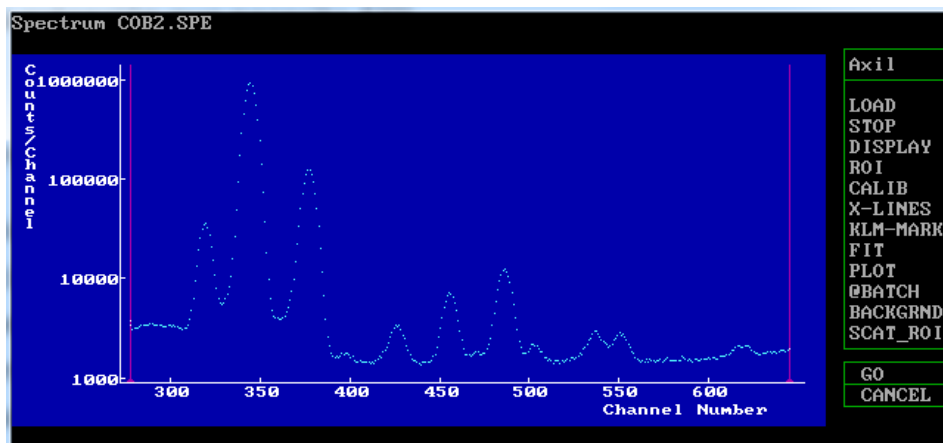


Figura 45: Espectro característico de FRXT de la muestra CoB2, con el software AXIL.

4.3.2 Pre calibración de los espectros obtenidos

Los archivos de extensiones *.SPE deben ser pre calibrados. Esto se hace a través de la declaración de líneas características (mínimo, dos líneas de los extremos) del espectro de FRXT que son evidentemente visibles. Por ejemplo, ha sido factible declarar el hierro y el molibdeno, que siempre están presentes en todas las muestras de suelo. La K_{α} del hierro, debido a que es el elemento más abundante en los suelos y la línea K_{α} del molibdeno, que proviene de la fuente excitación del tubo de rayos X.

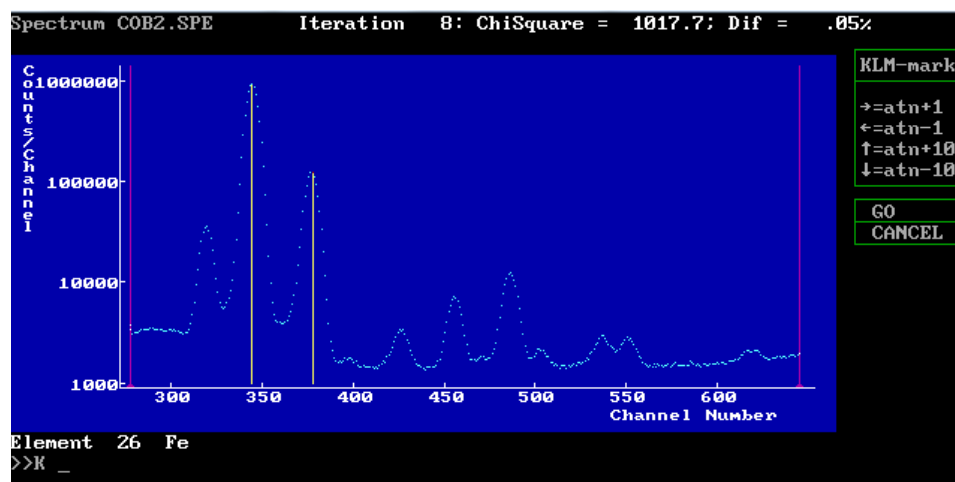


Figura 46: Espectro característico de la muestra CoB2. Las líneas K_{α} y K_{β} del hierro están indicadas.

4.3.3 Declaración de elementos de interés

AXIL proporciona una base de datos con la información que aparece en la siguiente tabla y es así que es posible declarar los metales pesados nefrotóxicos, de interés en este caso.

Tabla 8. Algunos de los elementos de interés que fueron declarados en los espectros de energía. Algunos fueron declarados con la línea característica K y otros con L.

Número atómico	Elemento	K α (keV)	K β (keV)	L α (keV)	L β (keV)
24	Cr	5.412	5.924	0.573	0.511
28	Ni	7.472	8.265	0.869	0.852
29	Cu	8.041	8.904	0.930	0.950
30	Zn	8.631	9.570	1.012	1.034
33	As	10.532	11.722	1.282	1.317
48	Cd	23.106	26.081	3.133	3.316
80	Hg	70.154	80.103	9.980	11.821
82	Pb	74.221	84.859	10.542	12.211

4.3.4 Extracción del ruido de fondo

Debido a todos los efectos de dispersión que sufren los Rayos X al interactuar con el analito de estudio, se genera un ruido de fondo que es constante en todos los espectros (si los espectros son colectados bajo similares condiciones). Para eliminar este ruido de fondo, se hace un ajuste con un polinomio que se aproxime al ruido de fondo (el que más se ajusta a la forma del ruido de fondo) y se resta de los espectros. En este caso, un polinomio tipo exponencial de grado 5 se ajustó muy bien al ruido de fondo.

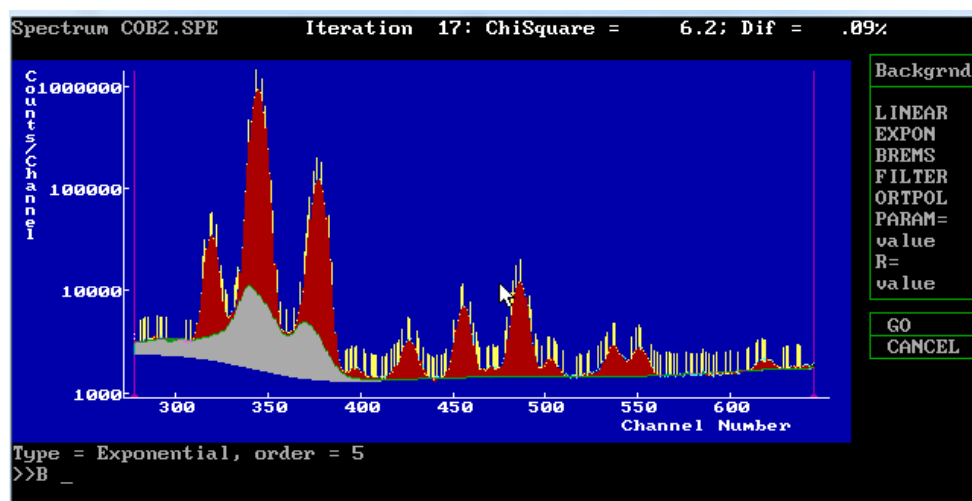


Figura 47: Espectro característico de la muestra CoB2, con las líneas características agregadas de algunos elementos (relleno rojo en el espectro). Extracción de ruido de fondo en color gris.

4.3.5 Deconvolución de los espectros

El ajuste efectuado en los espectros consiste en una corrección en la desviación de la forma de los picos, que se observa poseen una forma gaussiana. Esto se hace por medio de valores numéricos, que están almacenados en el software, estos valores son recalculados en un proceso iterativo a partir del espectro adquirido. Por tanto, se dice que el ajuste realizado es una “deconvolución gaussiana”. Al realizar deconvoluciones gaussianas a picos muy grandes (ej. los picos K α y K β del hierro), la desviación de la forma gaussiana pura se hace evidente. Se observa

una anchura en los picos orientada hacia el lado de baja energía de los picos y de igual forma, el ruido de fondo es mayor en esas áreas. Esto ocurre debido a diversos factores: la recolección incompleta de las cargas en el detector, picos satélites que son picos muy cercanos a las líneas de energía características y que son producto del efecto Auger, etc. El programa AXIL usa una tabla almacenada de valores determinados experimentalmente, que son utilizados para hacer una comparación entre la forma del pico obtenida y la forma gaussiana pura. (QXAS Quantitative X-ray Analysis System. IAEA. 2005).

En esta investigación se realizaron deconvoluciones gaussianas con un número de iteraciones de 100 a 300. Con este último paso, se genera un archivo de extensión *.ASR, el cual contiene toda la información estadística y física de las líneas características que se detectaron con la deconvolución.

4.3.6 Error en las medidas de los espectros

Existe un criterio de calidad a tomar en cuenta para saber qué elementos es correcto seleccionar como válidos y así no tener problemas con los valores obtenidos en el proceso de cuantificación.

- El valor del área bajo la curva del pico ajustado con la deconvolución Gaussiana para cada línea de cada elemento analizado, debe ser positiva y mayor a 3 veces el valor de la desviación estándar.
- El valor individual de chi cuadrado χ^2 generado en la estadística en el proceso de ajuste Gaussiano (para cada línea de interés), deben ser menor a 10 (idealmente 3).

*Tabla 9. Ejemplo de archivo de extensión *.ASR que contiene la información estadística de las líneas características que se detectaron con la deconvolución del espectro CoB2.*

Número atómico	Elemento	Energía (keV)	Área del pico	Desviación estándar	χ^2
24	Cr	5.412	-1832	226	5.9
25	Mn	5.895	261959	1074	1.58
26	Fe	6.399	7499769	3681	7.74
27	Co	6.925	3789	1235	26.46
28	Ni	7.472	2464	255	1.63
29	Cu	8.041	17966	323	1.63
30	Zn	8.631	52139	382	9.92
31	Ga	9.243	104564	581	6.69
33	As	10.532	11008	661	7.03
77	Ir	9.167	-4580	552	3.02
80	Hg	9.98	408	204	3.25
82	Pb	10.542	19165	61	1.66
83	Bi	10.828	-1405	813	2.75

En general, las áreas de los picos que resultaron negativas no fueron tomadas en cuenta en el proceso de cuantificación, por ejemplo el Cadmio, no se tomó en cuenta, puesto que sus áreas siempre resultaban negativas y aumentaban el valor de χ^2 general de todo el espectro.

4.4 Análisis cuantitativo.

Una vez que se ha hecho el análisis cualitativo a los espectros de las 81 muestras, se procedió a la obtención de las concentraciones. Como resultado de las deconvoluciones de los espectros, el análisis cuantitativo se hizo únicamente para los metales pesados: Cr, Ni, Cu, Zn, As y Pb. Se tomaron en cuenta diferentes números de muestras para realizar la cuantificación, puesto que la deconvolución resultó menos favorable para ciertos elementos en diferentes muestras.

4.4.1 Curva de calibración para la cuantificación.

Como se mostró en la metodología, el método de cuantificación de estandarización interna utiliza una curva de calibración basada en la medición de espectros de muestras de una misma solución multielemental a diferentes concentraciones. Se utilizó una solución multielemental Merck IV, la cual contiene 23 elementos en ácido nítrico diluido. (Ver anexo 2).

Para realizar esta curva de calibración, se necesitan como mínimo 3 elementos con concentraciones conocidas. A partir de estos datos se genera una curva de calibración, y para elementos que no estén contenidos en los estándares, sus valores pueden ser interpolados y extrapolados.

Cada solución de diferente concentración viene a ser un estándar que va a ser declarado para realizar la curva de calibración de cada elemento considerado. Un estándar, en este caso, consiste en varios elementos con concentraciones previamente elegidas (como se muestran en la tabla 8) y un elemento extra como estándar interno (Ga). La concentración de tal grupo de elementos cambiará de un estándar a otro, mientras que la concentración del estándar interno será la misma para cada solución (1000 mg/L). Y debe ser preferentemente cercana a la cantidad añadida a las muestras desconocidas.

Se prepararon 8 concentraciones de dicha solución (Merck IV) y mediante la metodología utilizada para las muestras de suelo, se prepararon 8 analitos, de los cuales se obtuvieron 8 espectros. En la siguiente tabla se muestran los parámetros seguidos durante la medición y sus resultados.

Tabla 10. Soluciones de diferentes concentración de Merck IV para calibración con Ga.

#	Concentración	Tiempo de medición	Tipo de muestra	Estándar interno	Tipo de polinomio utilizado	χ^2
1	10 ppm	600 s	Liquida	Ga: 1000 mg/L	Lineal Orden 15	5.3
2	8 ppm	600 s	Liquida	Ga: 1000 mg/L	Lineal Orden 12	2.6
3	6 ppm	600 s	Liquida	Ga: 1000 mg/L	Lineal Orden 12	4.3
4	4 ppm	800 s	Liquida	Ga: 1000 mg/L	Lineal Orden 12	6.9
5	2 ppm	900 s	Liquida	Ga: 1000 mg/L	Lineal Orden 15	5.1
6	1 ppm	1200 s	Liquida	Ga: 1000 mg/L	Lineal Orden 12	3.1
7	0.5 ppm	2000 s	Liquida	Ga: 1000 mg/L	Lineal Orden 13	5.3
8	0.1 ppm	9000 s	Liquida	Ga: 1000 mg/L	Lineal Orden 13	6.1

Se realizó un análisis de regresión para los elementos estándar. En FRXT, la proporción de la intensidad de un elemento de interés y la intensidad del elemento como estándar interno vs la concentración del elemento de interés, muestra un comportamiento lineal. Esta linealidad se puede encontrar para un rango de varios órdenes de magnitud para las concentraciones de varios elementos, siempre y cuando el espesor de la muestra pueda ser considerado aproximadamente delgado. (QXAS Quantitative X-ray Analysis System. IAEA. 2005)

El software extrae las sensibilidades individuales de esas curvas mediante un análisis de regresión.

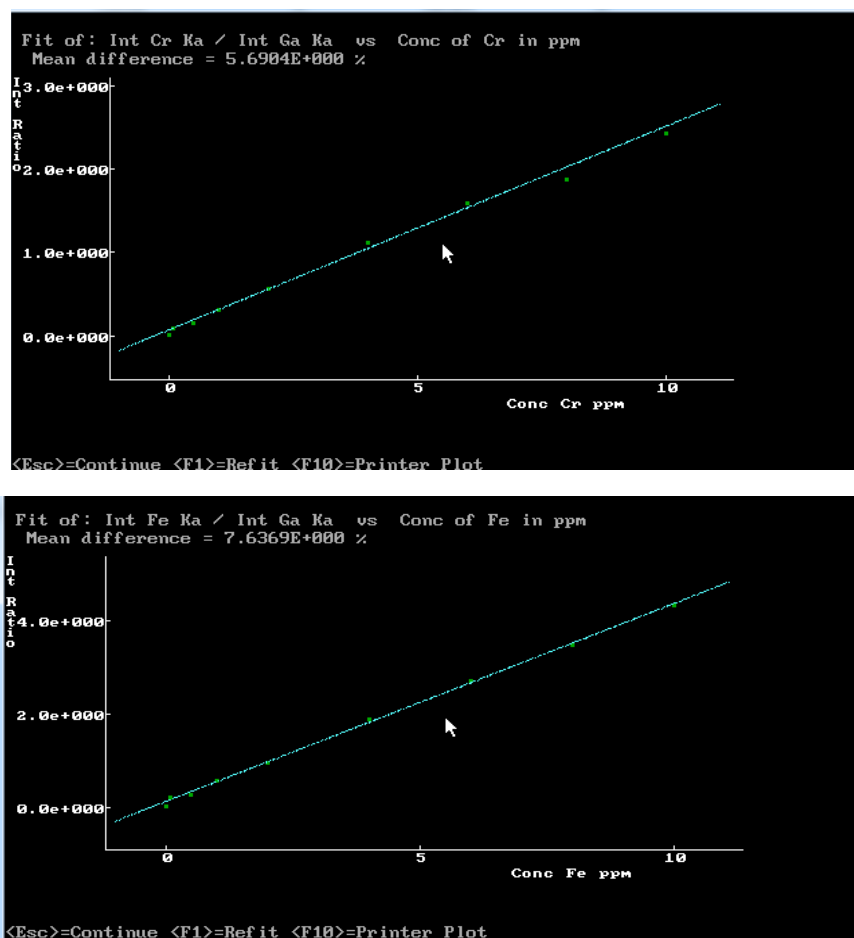


Figura 48. Ejemplos de curvas de calibración obtenidas para Cr (arriba) y Fe (abajo).

Se ha utilizado un tipo de ajuste específico para realizar el análisis de regresión que mejor se adapta a la curva de calibración. En este caso se seleccionó "Robust Regression". Este ajuste resulta favorable cuando los puntos de datos no están distribuidos normalmente. El concepto de regresión robusta se basa en excluir estadísticamente los puntos que están muy desviados de la curva. Para el caso habitual de que no existan problemas significativos con el ruido del blanco, el origen debe incluirse en el análisis de regresión (se debe Incluir el punto 0,0). Los valores de R ajustados (relaciones de intensidad), son utilizados para los cálculos adicionales.

4.4.2 Extensión de la calibración para elementos no medidos.

La calibración se realiza mediante el cálculo de las sensibilidades relativas de todos los elementos cuyas concentraciones y áreas de pico se guardan en el archivo *.CAL. junto al cálculo de las sensibilidades que se pueden utilizar para el análisis de muestras desconocidas. Para continuar con el procedimiento de calibración, la calibración debe extenderse para elementos no medidos mediante una extensión por un ajuste matemático. (QXAS Quantitative X-ray Analysis System. IAEA. 2005)

Para la técnica de fluorescencia de Rayos X por Reflexión Total, que requiere muestras delgadas, la extensión de la calibración se realiza mediante un ajuste polinomial de las sensibilidades relativas de las líneas K y L. Con la selección del primer elemento y del último elemento se fuerza al programa a extrapolar elementos no representados por los estándares. El concepto de la extensión para elementos no medidos es cuantificar elementos que no están disponibles para la calibración y se encuentran en las muestras con sus concentraciones bien descritas por elementos vecinos. El resultado del ajuste se muestra gráficamente en la figura 47.

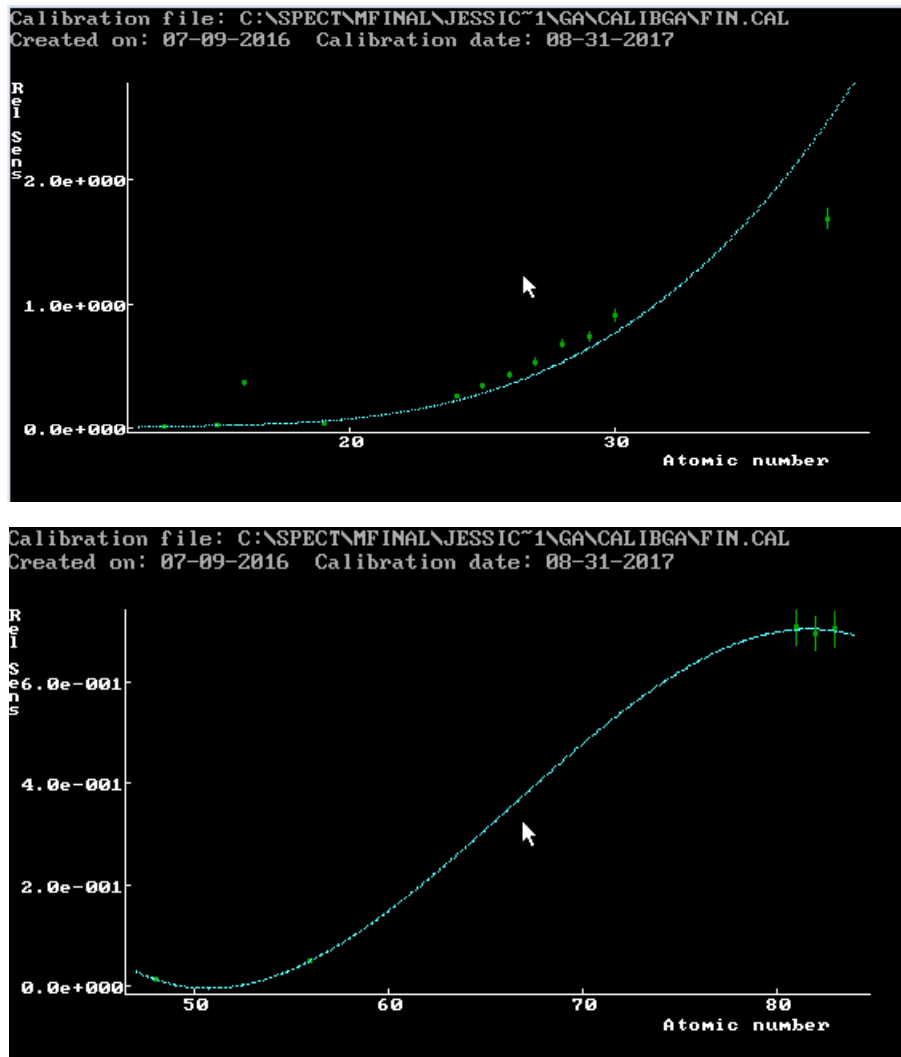


Figura 49. Extensión de la calibración para los demás elementos no medidos.

4.4.3 Medición de muestras desconocidas

Con la calibración para la cuantificación realizada y la extensión de la misma, se procedió a realizar la cuantificación de los elementos de interés en cada muestra.

Se establece la calibración y se procede a realizar el análisis de cada muestra. Es necesario declarar la corriente del tubo de rayos X, (1000 uA) y la concentración del estándar interno agregado en cada muestra, que en este caso ha sido, una concentración de 200 mg/kg. Finalmente se obtiene el análisis de la cuantificación en un archivo *.ARP.

Tabla 11. Ejemplo de archivo de extensión *.ARP que contiene la información estadística de conteo y concentraciones de los elementos medidos para la muestra CO-B5.

Analysed elements:								
El		Counts			Compound		Conc (ppm)	
Cr	Ka	588	±	298	Cr	<5.180		
Mn	Ka	381095	±	1325	Mn	951.302	± 3.437	
						37826.88		
Fe	Ka	2E+07	±	5425	Fe	3	± 38.322	
Co	Ka	20935	±	1444	Co	<79.138		
Ni	Ka	2252	±	276	Ni	3.816	± 0.698	
Cu	Ka	40504	±	328	Cu	61.457	± 0.871	
Zn	Ka	124510	±	457	Zn	170.087	± 3.368	
As	Ka	8932	±	647	As	8.971	± 1.692	
Br	Ka	9764	±	225	Br	7.84	± 0.258	
Gd	La	1601	±	727	Gd	<26.213		
Er	La	41298	±	1604	Er	<152.524		
Yb	La	92	±	281	Yb	<3.734		
Hf	La	2803	±	229	Hf	6.1	± 0.596	
Ir	La	-7464	±	597	Ir	<6.938		
Hg	La	2238	±	183	Hg	<3.457		
Tl	La	-800	±	278	Tl	<4.713		
Pb	La	15437	±	61	Pb	21.404	± 0.127	
Bi	La	727	±	803	Bi	<7.798		

4.5 Cuantificación de prueba

Previamente a la cuantificación de las concentraciones de los analitos de estudio, se realizó una cuantificación de prueba con muestras de suelo de referencia. Se utilizaron 2 materiales de referencia ISE (International Soil-Analytical Exchange): la muestra 951 y 998. Se les aplicó la metodología descrita anteriormente y se obtuvieron resultados (Figura 50) que se compararon con los datos de referencia en la Tabla 12.

Tabla 12. Valores certificados y medidos de algunos elementos de las muestras ISE 951 e ISE 998. (WAGENINGEN UNIVERSITY ENVIROMENTAL SCIENCES)

#	Elem.	ISE 951 certificado (ppm)	ISE 951 medido (ppm)	Error relativo ISE 951 (%)	ISE 998 certificado (ppm)	ISE 998 medido (ppm)	Error relativo ISE 998 (%)
1	Mn	1000	1274	27.40	174	181.747	4.45
2	Fe	29700	29988	0.97	90,200	96594.039	7.09
3	Ni	37.9	37.964	0.17	17.1	15.379	10.06
4	Cu	20.1	20.433	1.66	36.0	44.761	24.34
5	Zn	96.1	107.538	11.90	68.7	62.477	9.06
6	Br	8.39	9.443	12.55	15.4	18.405	19.51
7	K	19500	20622	5.75	340	338	0.59
8	Mg	8870	8997	1.43	-	-	-
9	Na	7070	7189	1.68	177	180	1.69
10	P	1100	1325	20.45	337	339	0.59
11	S	328	430	31.10	705	724	2.70
11	Ti	4300	4401	2.35	9410	9493	0.88

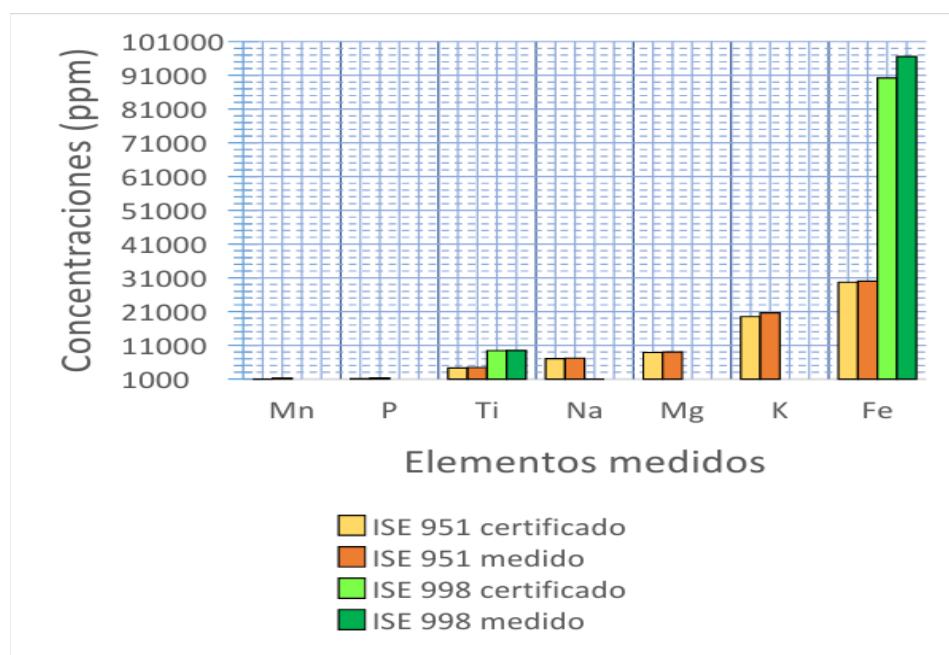


Figura 50 a. Comparación de concentraciones de elementos medidos vs certificados de materiales de referencia.

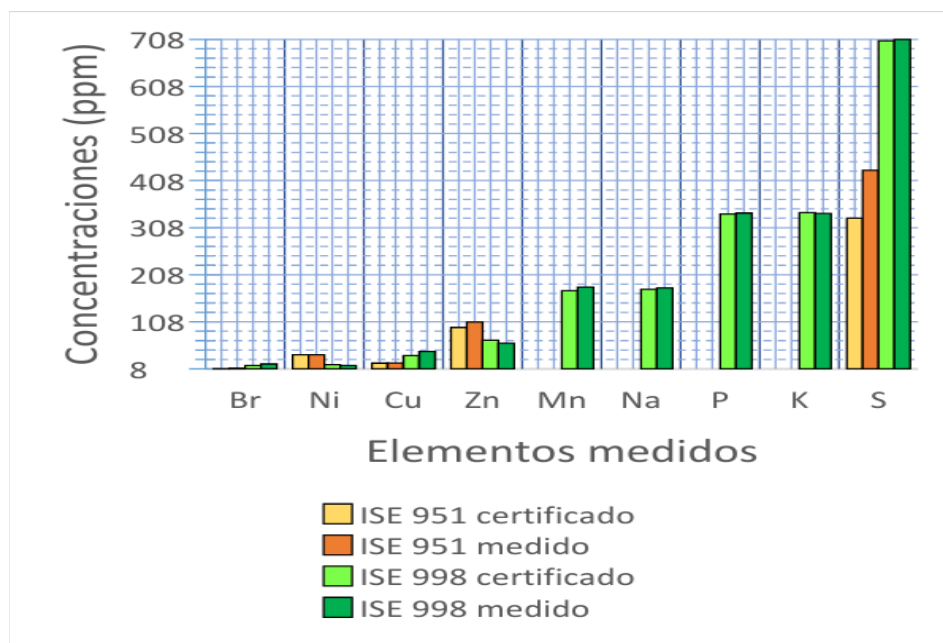


Figura 50 b. Comparación de concentraciones de elementos medidos vs certificados de materiales de referencia.

De dichos resultados se concluye que el método de tratamiento de la muestra, la calibración y el modelo de deconvolución han sido ejecutados correctamente, puesto que los resultados son aceptables.

4.6 Cuantificación de las concentraciones de As, Pb, Ni, Cu y Zn

En el proceso de cuantificación se obtuvieron las concentraciones de los metales As, Pb, Ni, Cu y Zn (Véase Anexo 3). Estos resultados fueron comparados con los valores mostrados en la Tabla 13. El análisis estadístico de las concentraciones obtenidas, es mostrado en la Tabla 14 y en los gráficos 51, 52 y 53

Tabla 13. Valores máximos de concentraciones en suelos de zonas de cultivo y de residencia recomendadas por la CCME.

Elemento	Zona de cultivo (ppm)	Zona de residencia (ppm)
As	12	12
Pb	70	140
Ni	50	50
Cu	63	63
Zn	200	200

Tabla 14. Resultados de concentraciones obtenidas en la cuantificación de las muestras de suelo.

Zona	Elem.	Media (ppm)	D. Estándar (ppm)	Máximo (ppm)	Mínimo (ppm)	CV
Cultivo	As	6.511	3.037	11.067	1.879	47%
Residencia	As	8.549	4.060	19.043	2.987	47%
Cultivo	Pb	22.758	9.167	46.610	11.189	40%
Residencia	Pb	21.131	12.884	58.548	1.185	58%
Cultivo	Ni	8.385	2.740	14.616	3.102	33%
Residencia	Ni	9.561	3.343	20.026	1.955	35%
Cultivo	Cu	90.126	19.976	126.030	53.668	22%
Residencia	Cu	91.738	21.668	155.207	54.713	24%
Cultivo	Zn	136.879	42.025	258.085	64.563	31%
Residencia	Zn	157.302	53.370	332.613	65.072	34%

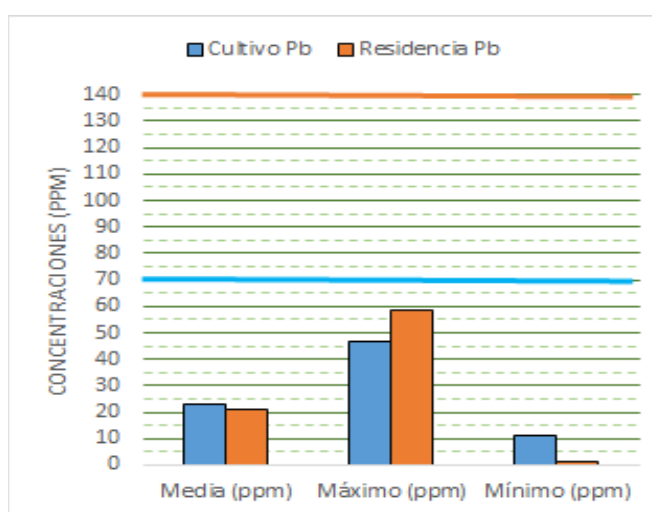
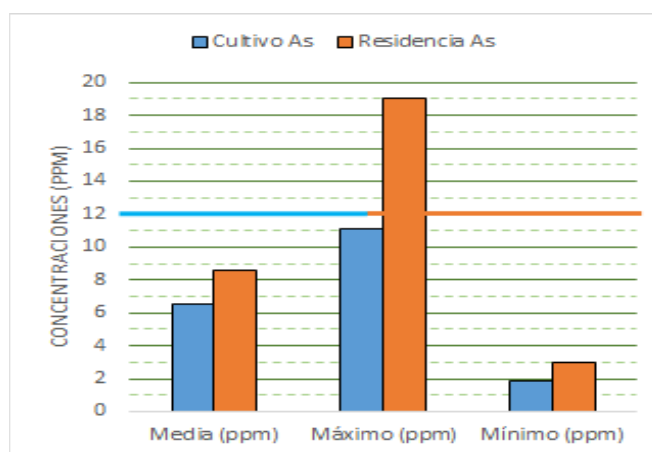


Figura 51: Valores mínimos, máximos y promedios del As (arriba) y Pb (abajo) obtenidos. Las líneas resaltadas corresponden a los valores permitidos por la CCME según zonas de cultivo y residencia.

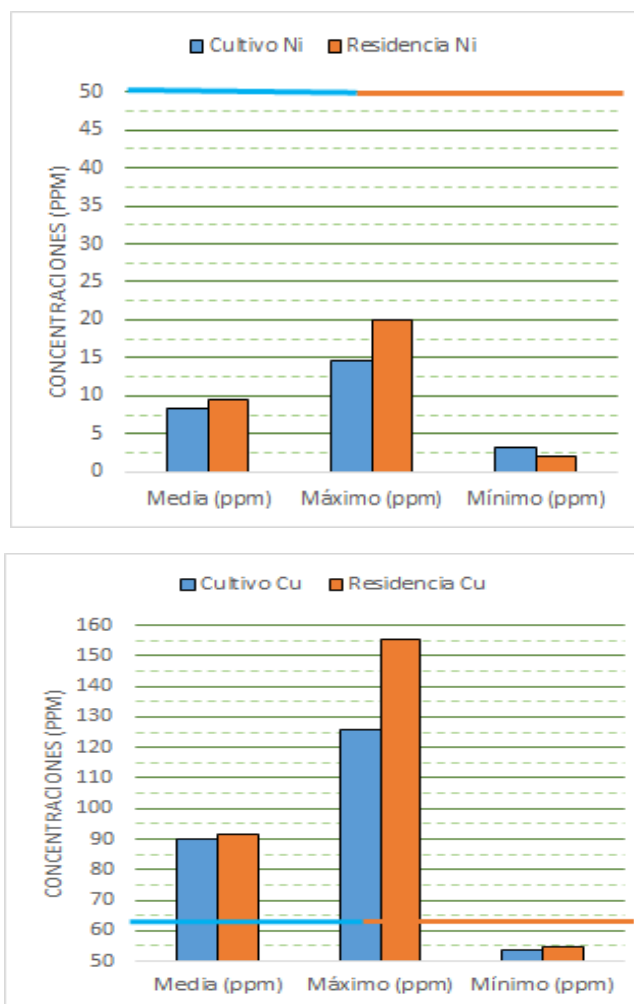


Figura 52: Valores mínimos, máximos y promedios del Ni (arriba) y Cu (abajo) obtenidos. Las líneas resaltadas corresponden a los valores permitidos por la CCME según zonas de cultivo y residencia.

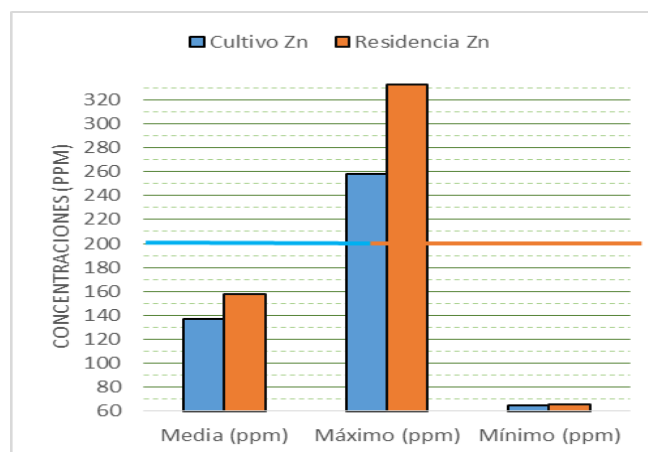


Figura 53: Valores mínimos, máximos y promedios del Zn obtenidos. Las líneas resaltadas corresponden a los valores permitidos por la CCME según zonas de cultivo y residencia.

En general, los valores promedio para las muestras tomadas de los dos tipos de zonas: de cultivo y de residencia, resultaron similares. La variación entre si es menor a un 25%. Además, es necesario considerar que el número de muestras tomadas en las zonas de cultivo (aprox. 15) es considerablemente menor que el número de muestras tomadas en las zonas de residencia. (aprox. 65); por lo que no son cantidades de muestra que sean comparables, más que para observar el comportamiento.

Los valores promedio para As, Pb, Ni y Zn están por debajo de los valores respectivos permitidos por la CCME. El Cu es el único elemento cuyo promedio resulta estar por encima del valor permitido, superándolo en un porcentaje del 30 - 32 % según el tipo de zona: cultivo-residencia respectivamente. Los valores máximos de cultivo y residencia sobrepasaron al valor permitido en un porcentaje mayor al 100 %.

Para el As, hubo un valor máximo que sobrepasó el límite permitido por la CCME y fue el valor correspondiente a la zona de residencia con un porcentaje de 59%. Para el Zn, los valores máximos sobrepasaron el límite permitido por la CCME en porcentajes de 29% y 66% respectivamente (cultivo-residencia). Los valores máximos del Pb y Ni resultaron estar por debajo de los valores permitidos por la CCME en un 45% y 65% respectivamente.

4.7 Mapas de interpolación espacial para los cinco metales analizados.

Los mapas de interpolación espacial de las concentraciones de los metales: As, Pb, Ni, Zn y Cu muestran la misma tendencia de las concentraciones en la zona de estudio. Para hacer dichas interpolaciones se utilizó el programa Arcgis 10.1 El método que fue utilizado para generar las interpolaciones de las concentraciones fue el método de los Vecinos Naturales.

En resumen, se crearon 5 mapas de interpolación espacial a partir de los 80 puntos muestreados aproximadamente (zonas de residencia y cultivo).

Debido al tipo de muestreo realizado (aleatorio simple orientado por criterio del investigador), los puntos no presentan uniformidad en su distribución y en algunos casos, no muestran una cercanía idónea. Por tal razón la interpolación realizada será eficientemente válida para los puntos que están más cercanos entre sí, pero habrá que tomar con reserva los puntos más alejados entre sí. En los mapas se pueden identificar 4 agrupamientos de puntos que están cercanos entre sí. Las regiones “vacías” interpoladas donde no se encuentran puntos de muestreo, podrían brindar una idea del posible comportamiento de la variable de estudio, pero se toma como válida únicamente la interpolación en las regiones “vacías” donde los puntos se encuentran cercanos.

En los mapas de interpolación, las regiones amarillas corresponden a zonas “calientes”, donde los valores de concentración del elemento en cuestión están muy cercanos (sobre o debajo) del límite permitido por la CCME. Las regiones de color rosa a rojo indican valores de concentraciones muy por encima del valor permitido, que van en aumento gradualmente. Las regiones de color azul a celeste indican valores muy por debajo del valor permitido, que van en decremento gradualmente.

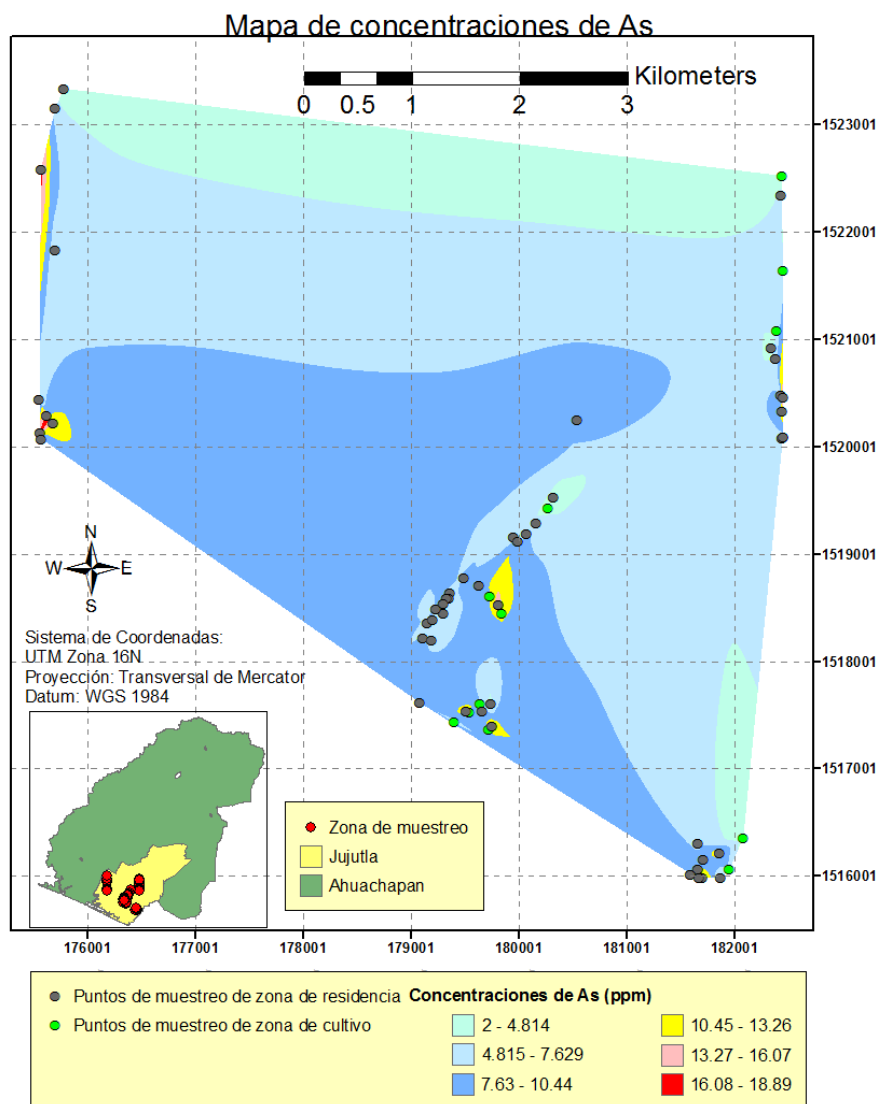


Figura 54. Mapa de concentraciones de As en las zonas de residencia y de cultivo.

En el mapa de interpolación del As, se observan algunas regiones amarillas que corresponden a puntos de muestreo que algunos presentan regiones aún más pequeñas en rosa y rojo, cuyos valores están por encima del valor permitido. Sin embargo, en general se presenta una tendencia de valores por debajo del límite permitido (celeste a azul). Todos los puntos que presentan concentraciones mayores al límite permitido (12 ppm), resultan ser de zonas de residencia, por lo que podría atribuirse dicho comportamiento a causas de carácter antropogénico.

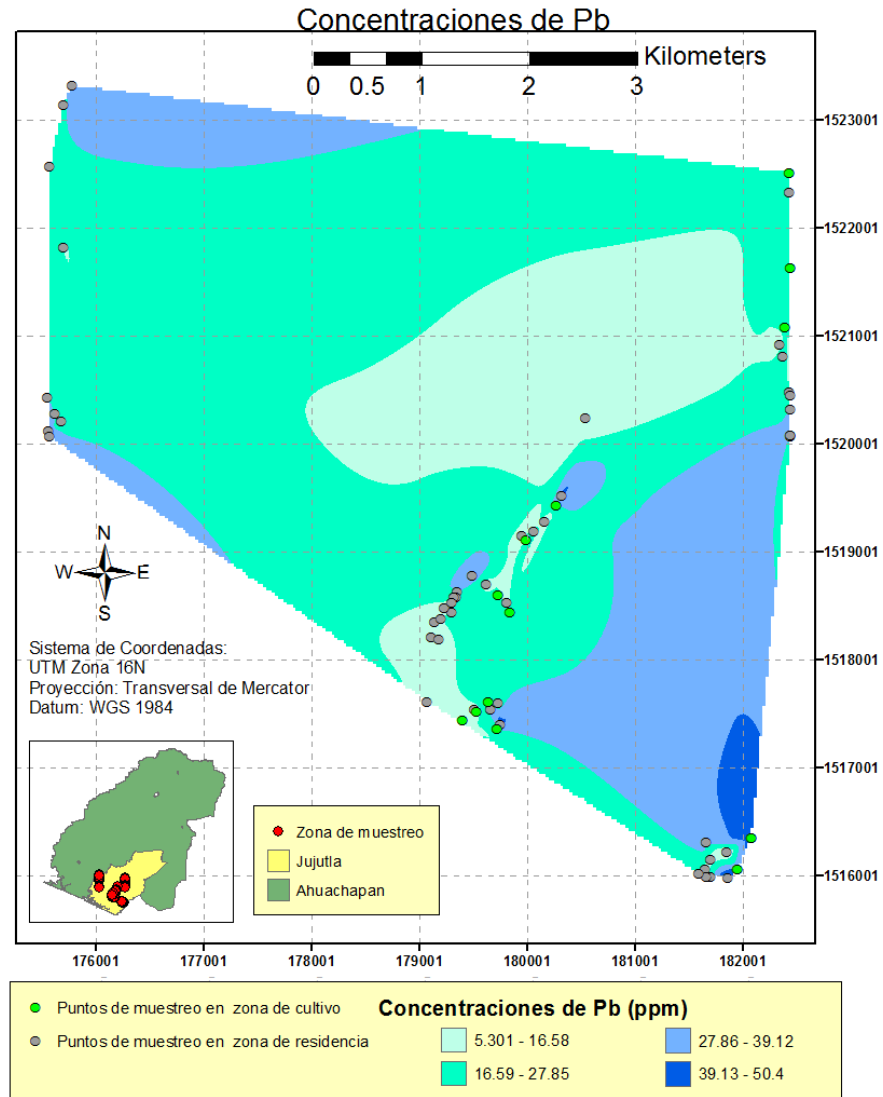


Figura 55. Mapa de concentraciones de Pb en las zonas de residencia y de cultivo.

En el mapa de interpolación del Pb, se presenta una tendencia de valores por debajo del límite permitido (celeste a azul) puesto que no se presentan puntos de muestreo cuyos valores superen al dicho límite. (70 ppm para zonas de cultivo y 140 ppm para zonas de residencia).

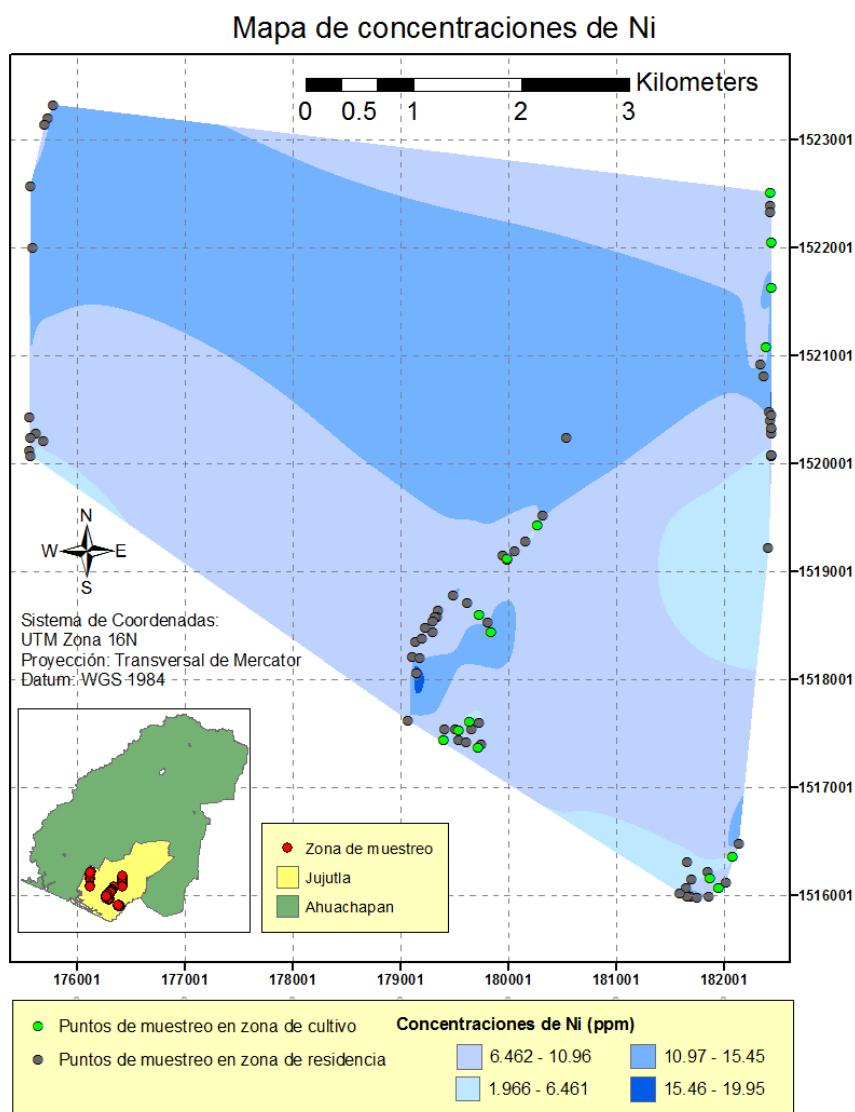


Figura 56. Mapa de concentraciones de Ni en las zonas de residencia y de cultivo.

En el mapa de interpolación del Ni, se presenta una tendencia de valores por debajo del límite permitido (celeste a azul) puesto que no se presentan puntos de muestreo cuyos valores superen al dicho límite (50 ppm).

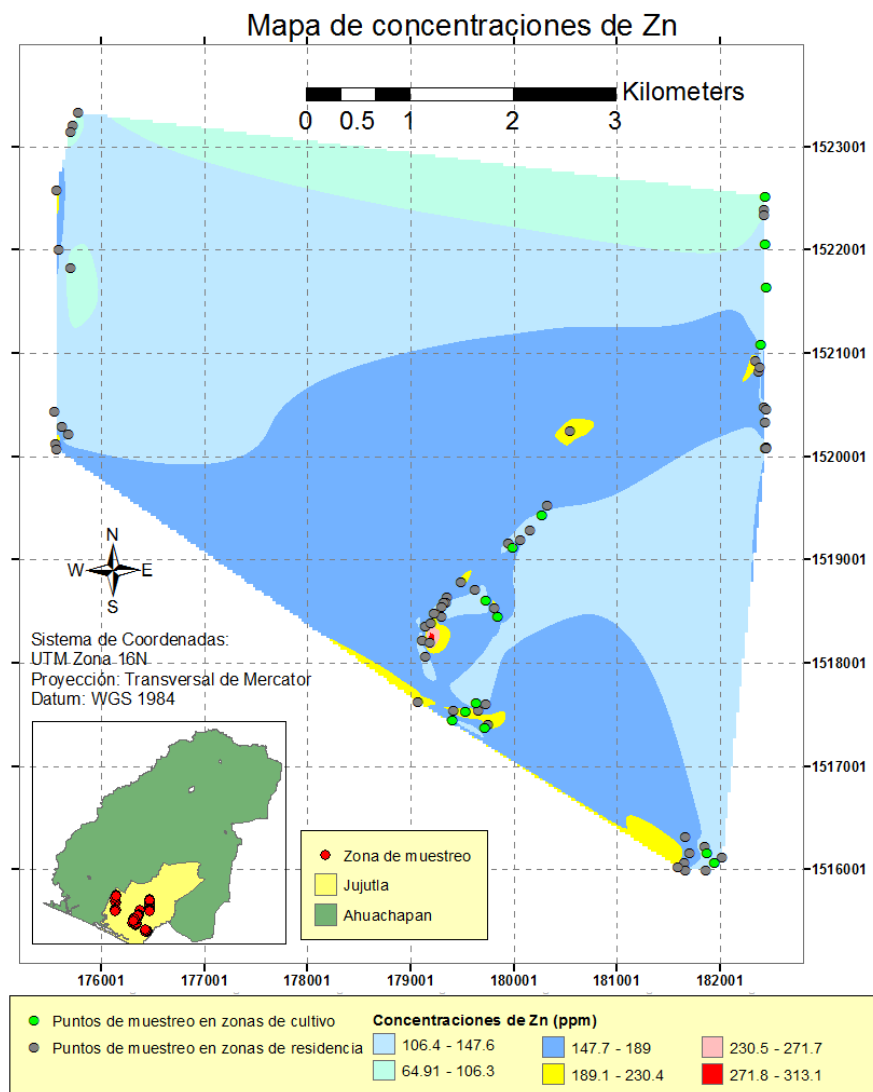


Figura 57. Mapa de concentraciones de Zn en las zonas de residencia y de cultivo.

En el mapa de interpolación del Zn, se observan algunas regiones amarillas que corresponden a puntos de muestreo que algunos presentan regiones aún más pequeñas en rosa y rojo, cuyos valores están por encima del valor permitido. Sin embargo, en general se presenta una tendencia de valores por debajo del límite establecido (celeste a azul). Todos los puntos que presentan concentraciones mayores al límite permitido (200 ppm), resultan ser de zonas de residencia, por lo que podría atribuirse dicho comportamiento a causas de carácter antropogénico.

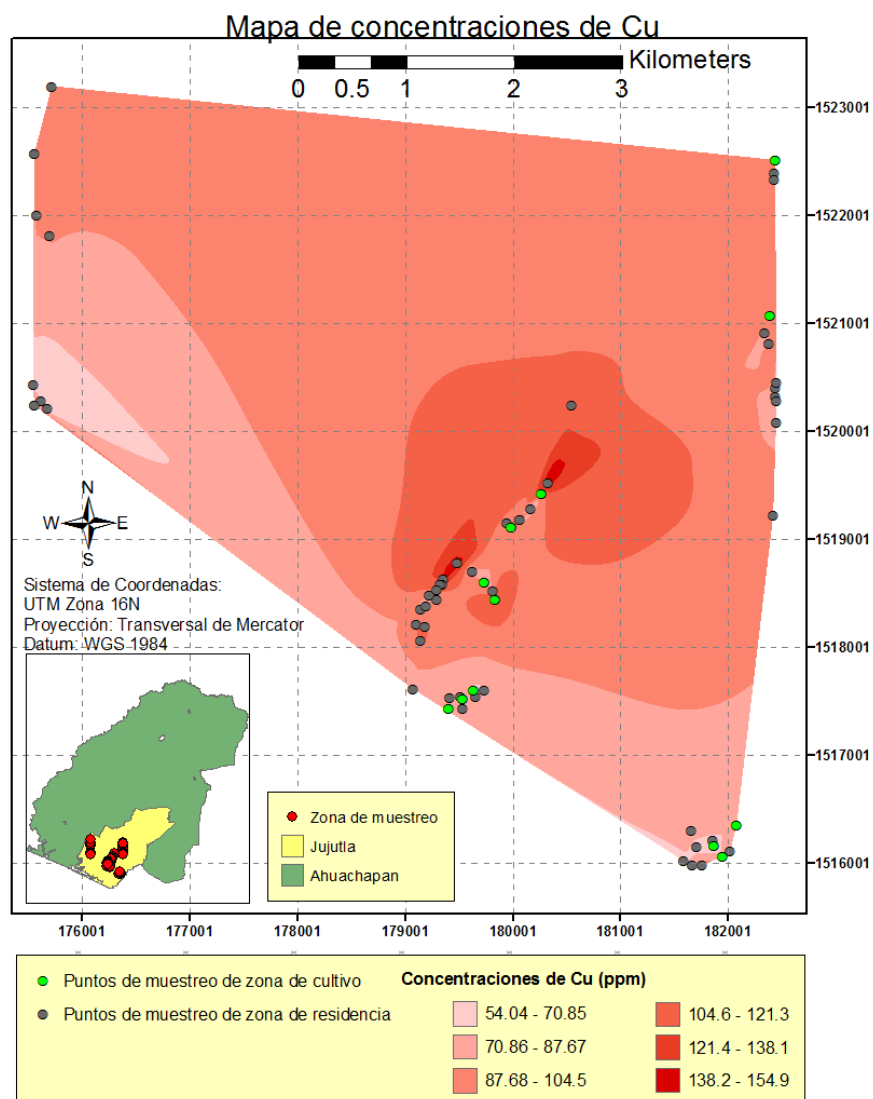


Figura 58. Mapa de concentraciones de Cu en las zonas de residencia y de cultivo.

En el mapa de interpolación del Cu, se observan algunas regiones de color rosa a rojo que indican valores de concentraciones muy por encima del valor permitido (63 ppm), que van en aumento gradualmente. No se observa un cambio considerable de las concentraciones que esté relacionado con el tipo de zona: de residencia o de cultivo.

5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES

En esta investigación, se midieron las concentraciones de 5 metales pesados tóxicos en 81 muestras de suelo: As, Pb, Ni, Cu y Zn, mediante la técnica de Fluorescencia de Rayos X por Reflexión Total. Las concentraciones medidas fueron determinadas por medio de una deconvolución Gaussiana de los espectros obtenidos.

Debido a que el objetivo principal de la investigación era cuantificar ciertos metales pesados, fue imprescindible presentar resultados confiables, por lo que fue necesario realizar una “depuración” teniendo en cuenta ciertos criterios de calidad. Fue necesario descartar las concentraciones de las muestras: cuyas áreas resultaron negativas y cuyos factores estadísticos de chi resultaron mayores a 10. Debido a tales criterios se dejaron por fuera los elementos nefrotóxicos como el Hg, Cd y Cr y se consideraron tres elementos: Ni, Cu y Zn cuya toxicidad esta indirectamente relacionada a los daños renales. Por lo tanto, resulta importante considerar qué criterios de calidad se ven involucrados en el análisis de espectros, dependiendo del método de cuantificación utilizado, y aplicarlos debidamente para asegurar la confiabilidad de los datos. De lo anterior mencionado se concluye:

- El análisis de espectros para la obtención de concentraciones realizado es confiable, debido a que se tomaron en cuenta 2 factores de calidad en la deconvolución gaussiana realizada a los espectros: El área obtenida de los picos de los elementos tras la deconvolución debe ser positiva y el factor estadístico de chí de cada elemento debe ser menor o igual a 10. La consideración de estos factores de calidad fue una de las razones por la cual no se logró cuantificar efectivamente Hg, Cd y Cr.

Los 5 elementos identificados se midieron con una desviación estándar relativa aproximada de: 47 % para el As, 40% – 58% para el Pb, 33% - 35% para el Ni, 22% - 24% para el Cu y 31% - 34% para el Zn (cultivo-residencia). Estas desviaciones fueron obtenidas por medio de la estadística, (mostrada en la Tabla 14) a partir de la desviación estándar de todas las concentraciones de cada elemento según la zona de extracción: cultivo o residencia. Por lo que se concluye que:

- Las concentraciones de los metales pesados medidas tiene una variabilidad relativa grande (mayor al 20%), lo que puede servir como un indicador previo de que el origen de la presencia de los metales pesados proviene de fuentes diversas.

También en el proceso de deconvolución gaussiana, se generó una desviación estándar que está relacionada al ajuste realizado del área de pico debido únicamente a la estadística de conteo. Se muestra un ejemplo de estas desviaciones obtenidas de un espectro en la Tabla 9. Si la concentración de cualquier elemento en una muestra cae por debajo del límite de detección, esto se indica en el reporte con un signo "<" delante de un valor de concentración, como pudo observarse en la Tabla 11. Se alcanza el límite de detección, si el área del pico neto calculado es igual o inferior a tres veces la desviación estándar correspondiente ("criterio 3σ "). (QXAS Quantitative X-ray Analysis System. IAEA. 2005). Esta desviación estándar generada en el ajuste está determinada por el ruido de fondo de un pico y superposición de otros picos. Debido a esta razón no se consideraron elementos como el Hg, Cd y Cr. Por consiguiente, es importante analizar la estadística de conteo generada en el reporte final del proceso de cuantificación, para presentar resultados confiables. De esto se concluye:

- La aplicación del criterio estadístico 3σ en el análisis de las concentraciones obtenidas permitió asegurar la confiabilidad de los resultados, puesto que se realizó una selección de valores de concentraciones que cumplieran con dicho criterio que se tomaron como correctas. Esta fue otra razón por la cual se dejó afuera la medida de las concentraciones de Hg, Cd y Cr.

En la práctica, la preparación repetida y la evaluación de estándares y muestras idénticas pueden conducir a valores correctos para la precisión. Por precisión generalmente se entiende la desviación de un valor de concentración del valor "verdadero". Solo el análisis de materiales de referencia estándar puede conducir a una idea de la precisión para un tipo particular de muestra. El objetivo es, por tanto, validar la metodología tomando en cuenta cada paso: desde la preparación de la muestra hasta la deconvolución de los espectros. Por esta razón, se realizó el análisis a los materiales de referencia ISE, concluyéndose lo siguiente:

- La cuantificación de prueba realizada con los materiales de referencia ISE presentó resultados favorables, (como se pudo observar en el Gráfico 1 y Tabla 10) donde el error relativo porcentual de la concentración medida con respecto a la de referencia de algunos elementos de interés (por ejemplo Ni, Cu y Zn), es menor al 20%, lo que no representa una variación que se considere significativa para el análisis realizado en esta investigación.

Para obtener la concentración correcta de los elementos de Pb y As se realizó un procedimiento particular en el ajuste. Puesto que la línea característica K_{α} del As tiene una energía de 10.54 KeV y la línea característica L_{α} del Pb tiene una energía de 10.55 KeV, por lo tanto en el espectro se observa una sola banda de energía, cuya área incluye al As y Pb, y en la deconvolución se ve beneficiado el elemento que esté en mayor porcentaje en las muestras, dando un resultado incorrecto en la concentración de dicho elemento. Por tal razón, fue necesario hacer dos veces el ajuste para el mismo espectro, declarando por separado las líneas de energía respectivas mencionadas de los elementos y luego haciendo una diferencia en las concentraciones obtenidas, habiendo garantizado así una correcta determinación de tales concentraciones. Por lo que se concluye que:

- La determinación de las concentraciones de As y Pb es un resultado confiable puesto que se consideró el solapamiento que ocurre entre sus bandas de energía, realizando un ajuste particular en el espectro, que consistió en efectuar una doble deconvolución declarando las líneas de energía de cada elemento por separado y luego realizando una sustracción de las mismas.
- Debido a los aspectos considerados para asegurar la confiabilidad de los resultados, el análisis estadístico de las concentraciones obtenidas se realizó para diferente número de muestras para cada elemento (como se observa en el Anexo 3), sin ser menor a 60 muestras, para asegurar la representatividad: Para el As, Cu y Pb se tomaron 63 muestras, para el Ni se tomaron 79 muestras y para el Zn se tomaron 69 muestras.
- Los valores promedios de las concentraciones de todos los metales pesados medidos As, Pb, Ni y Zn, a excepción del cobre, resultaron por debajo del valor máximo recomendado por la CCME (ver Tabla 3). El valor promedio del Cu sobrepasó el valor máximo recomendado en un 32% para la zona de residencia y un 30% para la zona de cultivo. En

base a estos resultados, no se observan indicios de contaminación de As, Pb, Ni y Zn, sin embargo no puede descartarse la posibilidad por completo. Y se puede observar indicios claros de contaminación de Cu debido a que el 30-32% de las concentraciones medidas exceden el valor permitido por la norma.

- Los valores máximos de las concentraciones de los metales pesados Ni, y Pb encontrados en este estudio, para las muestras de la zona de cultivos, se encontraron por debajo del valor máximo recomendado por la CCME. Los valores máximos del Zn si sobrepasaron el valor máximo recomendado en un 29 % para zonas de cultivo y 66 % para zonas de residencia. Los valores máximos de cultivo y residencia del Cu sobrepasaron al valor permitido en un porcentaje mayor al 100 %. Para el As, hubo un valor máximo que sobrepasó el límite permitido por la CCME y fue el valor correspondiente a una zona de residencia con un porcentaje de 59%.
- Se obtuvo una desviación estándar para las zonas de residencia de: As 4.060 ppm, Cu 21.678 ppm, Ni 3.343 ppm, Zn 42.025 ppm y Pb 12.884 ppm. Para las zonas de cultivo As 3.037 ppm, Cu 19.976 ppm, Ni 2.740 ppm, Zn 53.370 ppm y Pb 9.167 ppm. A excepción del Zn, los valores de las concentraciones de los elementos medidos se encuentran cerca del valor promedio puesto que su desviación estándar es menor a 20 ppm.
- En base a las interpolaciones realizadas que se muestran en los mapas, no se observa una relación distintiva entre los valores máximos de concentración de ningún elemento y un tipo de zona específica, es decir, no se observa por ejemplo que las zonas calientes estén asociadas a las zonas de cultivo en particular. El Cu, por ejemplo, que es el elemento que sobrepasó los límites permitidos por la CCME, muestra un comportamiento considerado indistinguible en zonas de cultivo y residencia.

Parte de la comprensión de la distribución espacial de las concentraciones de los elementos presentes en el suelo radica en la caracterización del suelo, puesto que las concentraciones obtenidas, en este caso, son una especie de “fotografía” de la situación. Uno de los parámetros físico-químicos que sirven para caracterizar el suelo es el pH, que se midió para cada una de las muestras como se mostró en el gráfico 1. En general, el pH del suelo considerado normal en zonas húmedas es de 5 a 7, mientras que para zonas áridas de 7 a 8.5. Esta condición de pH del suelo es la que se considera óptima para cultivar. De las mediciones realizadas se concluye lo siguiente:

- El 70 % de las muestras de suelo resultó tener un nivel de pH neutro, 14 % pH ácido y 16 % pH básico. Por lo cual, las muestras de suelo presentan un comportamiento regular que indica el favorecimiento en la movilidad para ciertos metales: La tendencia de la movilidad del Pb es de encontrarse prácticamente fijo, el Cu moderadamente móvil y el As y Zn fácilmente móviles.
- La aplicación de la técnica de FRXT en esta investigación, ha demostrado ser adecuada para contribuir a la determinación de presencia y cuantificación de metales pesados en muestras de suelo. Estos datos pueden servir con certeza como referencia para futuros proyectos relacionados al comportamiento de metales pesados en suelos, y así observar cambios graduales de las concentraciones de estos en la zona de Guayapa Abajo.

6. RECOMENDACIONES

1. Es necesario considerar otro tipo de pre-tratamientos de las muestras de suelo, haciendo uso de métodos considerados clásicos de análisis, para determinar elementos importantes como el Hg, Cd y Cr en la zona de estudio. Entre estos métodos, se considera recomendable utilizar métodos de separación de componentes por extracción, precipitación y destilación, identificación de componentes separados, etc.
2. El tipo de muestreo que se ha de realizar, queda condicionado por el tipo de investigación que se esté llevando a cabo, por ejemplo es este caso, que se realizó un muestreo por criterio debido a la relación que se quería contribuir a esclarecer entre la Enfermedad Renal Crónica de causas no tradicionales y la presencia de metales pesados. Sin embargo, es necesario plantearse tomar puntos de muestreo como referencia en lugares estratégicos que permitan tener una red de puntos distribuidos uniformemente en la medida de lo posible, esto con el objetivo de poder realizar una interpolación espacial efectiva, sin dejar zonas vacías.
3. Los objetivos planteados en la investigación lograron ser cumplidos, puesto que se determinó la presencia y cantidad de metales pesados, algunos de estos nefrotóxicos. Aun así es recomendable hacer uso de otra técnica de análisis de espectroscopia, como espectroscopia de absorción atómica, fluorescencia de rayos X por dispersión de energía, etc.; esto con el objetivo de validar los valores de concentraciones determinados e incluso determinar las concentraciones de los elementos que no pudieron ser medidas.
4. Las concentraciones de Cu encontradas (en promedio) resultaron superar el valor máximo permitido por la CCME. Es recomendable realizar un estudio posterior específicamente del Cu en la misma zona y en zonas aledañas para verificar las concentraciones, disponibilidad y movilidad de dicho metal. De igual forma, profundizar en la caracterización del Cu: Determinación del Cu en muestras de suelo, disponibilidad del Cu, efectos sobre la salud debido al Cu, Formas de penetración en el ser humano, etc.

ANEXOS

Anexo 1. Muestras recolectadas en la zona de estudio.

Comunidad	Código	X	Y	PH	Tipo de zona	Descripción
El Cocalito	CO-A1	182079	1516356	6.64	cultivo	Frijol
El Cocalito	CO-A2	182140	1516478	6.58	residencia	Patio
El Cocalito	CO-A3	181952	1516065	4.32	cultivo	Frijol
El Cocalito	CO-A4	181866	1515986	5.52	residencia	Patio
El Cocalito	CO-A5	181698	1515989	5.78	residencia	Patio
El Cocalito	CO-A6	181656	1516065	6.89	residencia	Patio
El Cocalito	CO-A7	181663	1515987	5.95	residencia	Patio
El Cocalito	CO-A8	181592	1516021	6.25	residencia	Patio
El Cocalito	CO-B1	182020	1516115	5.55	residencia	Patio
El Cocalito	CO-B2	181871	1516161	6.28	cultivo	Frijol
El Cocalito	CO-B3	181855	1516217	7.11	residencia	Patio
El Cocalito	CO-B4	181757	1515980	7.4	residencia	Patio
El Cocalito	CO-B5	181707	1516152	6.58	residencia	Patio
El Cocalito	CO-B6	181661	1516309	6.92	residencia	Patio
Faya	FA-A1	182375	1520816	7.28	residencia	Patio
Faya	FA-A2	182342.4	1520920	7.86	residencia	Patio
Faya	FA-A3	182445.3	1521636	5.9	cultivo	Frijol
Faya	FA-A4	182442	1522052	5.6	cultivo	Cañal
Faya	FA-B1	182390.9	1520866	7.56	residencia	Patio
Faya	FA-B2	182392.2	1521080	5.53	cultivo	Cañal
Faya	FA-B3	175702	1521821	7.18	residencia	Patio
Faya	FA-B4	175584	1522006	6.6	residencia	Patio
El Escondido	ES-A5	175566	1522573	7.62	residencia	Patio
El Escondido	ES-A6	182438.7	1522516	5.52	cultivo	Maíz
El Escondido	ES-A7	182432	1522392	5.94	residencia	Patio
El Escondido	ES-A8	182430.8	1522337	6.11	residencia	Patio
El Escondido	ES-B5	175730	1523201	5.9	residencia	Patio
El Escondido	ES-B6	175779	1523327	6.69	residencia	Patio
El Escondido	ES-B7	175699	1523146	5.84	residencia	Patio
El Carmen	CAR-A1	182417.8	1519222	6.58	residencia	Patio
El Carmen	CAR-A2	182429.2	1520480	4.97	residencia	Patio
El Carmen	CAR-A3	182435.8	1520401	7.73	residencia	Patio
El Carmen	CAR-A4	182444.4	1520456	6.54	residencia	Patio
El Carmen	CAR-A5	175552	1520435	5.35	residencia	Patio
El Carmen	CAR-A6	175621	1520283	7.13	residencia	Patio
El Carmen	CAR-A7	175558	1520125	7.55	residencia	Patio
El Carmen	CAR-A8	182445.8	1520084	5.61	residencia	Patio
El Carmen	CAR-B1	182441.4	1520325	7.1	residencia	Patio
El Carmen	CAR-B2	182446.9	1520285	7.49	residencia	Patio
El Carmen	CAR-B3	175568	1520242	7.93	residencia	Patio
El Carmen	CAR-B4	175683	1520212	7.58	residencia	Patio
El Carmen	CAR-B5	182445.1	1520337	7.63	residencia	Patio
El Carmen	CAR-B6	175568	1520071	4.65	residencia	Patio
El Carmen	CAR-B7	182441	1520073	4.58	residencia	Patio

El Mango	MAN-A1	182446	1520083	6.59	residencia	Patio
El Mango	MAN-A2	179403	1517439	5.63	cultivo	Cañal
El Mango	MAN-A3	179538	1517439	6.98	residencia	Patio
El Mango	MAN-A4	179613	1517422	6.21	residencia	Patio
El Mango	MAN-A5	179753	1517400	6.86	residencia	Patio
El Mango	MAN-A6	179638	1517608	4.44	cultivo	Maíz
El Mango	MAN-B1	179075	1517617	6.63	residencia	Patio
El Mango	MAN-B2	179414	1517537	6,77	residencia	Patio
El Mango	MAN-B3	179513	1517541	7.63	residencia	Patio
El Mango	MAN-B4	179536	1517526	5.27	cultivo	Maíz
El Mango	MAN-B5	179723	1517365	5.3	cultivo	Maíz
El Mango	MAN-B6	179657	1517541	6.62	residencia	Patio
El Mango	MAN-B7	179734	1517603	6.65	residencia	Patio
Someta	SO-A1	179812	1518529	5.37	residencia	Patio
Someta	SO-A2	179841	1518442	5.08	cultivo	Maíz
Someta	SO-A3	179733	1518605	5.27	cultivo	Maíz
Someta	SO-A4	179624	1518708	6.92	residencia	Patio
Someta	SO-A5	179489	1518781	7.09	residencia	Patio
Someta	SO-A6	179354	1518636	6.34	residencia	Patio
Someta	SO-A7	179344	1518584	6.29	residencia	Patio
Someta	SO-B1	179299	1518444	6.86	residencia	Patio
Cuilapa	CU-B1	180542	1520247	5.64	residencia	Patio
Cuilapa	CU-B2	180322	1519522	5.98	residencia	Patio
Cuilapa	CU-B3	180269	1519430	5.81	cultivo	Maíz
Cuilapa	CU-B4	180163	1519284	7.79	residencia	Patio
Cuilapa	CU-B5	180065	1519189	5.64	residencia	Patio
Cuilapa	CU-A1	179949	1519155	7.55	residencia	Patio
Cuilapa	CU-A2	179990	1519117	6.34	cultivo	Maíz
La Colonia	COL-A1	179991	1519116	7.85	residencia	Patio
La Colonia	COL-A2	179109	1518215	6.57	residencia	Patio
La Colonia	COL-A3	179145	1518352	7.53	residencia	Patio
La Colonia	COL-A4	179198	1518383	7.05	residencia	Patio
La Colonia	COL-A5	179229	1518483	7.16	residencia	Patio
La Colonia	COL-A6	179324	1518582	6.72	residencia	Patio
La Colonia	COL-A7	179297	1518537	6.67	residencia	Patio
La Colonia	COL-A8	179184	1518197	7.1	residencia	Patio
La Colonia	COL-A9	179147	1518064	6.23	residencia	Patio

Anexo 2. Información técnica de solución elemental Merck IV.



MERCK Use Information Sheet

Catalogue No. 111355

Print Date: 07.07.2017

Product name ICP multi-element standard solution IV (23 elements in diluted nitric acid) 1000 mg/l: Ag, Al, B, Ba, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, In, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Sr, Ti, Zn Certipur®

Free short title: Use descriptors related to the industrial use (Reagent for analysis)

Identified use descriptors: SU 3 - Industrial uses: Uses of substances as such or in preparations at industrial sites
 SU9 - Manufacture of fine chemicals
 SU 10 - Formulation [mixing] of preparations and/ or re-packaging (excluding alloys)

PROC1, PROC2, PROC3, PROC4, PROC5, PROC8a, PROC8b, PROC9, PROC10, PROC15

ERC1, ERC2, ERC6a, ERC6b

PC21

Exposure driving use descriptors

Process Categories

PROC1 Use in closed process, no likelihood of exposure

PROC2 Use in closed, continuous process with occasional controlled exposure

PROC3 Use in closed batch process (synthesis or formulation)

PROC4 Use in batch and other process (synthesis) where opportunity for exposure arises

PROC5 Mixing or blending in batch processes for formulation of preparations and articles (multistage and/ or significant contact)

PROC8a Transfer of substance or preparation (charging/ discharging) from/ to vessels/ large containers at non-dedicated facilities

PROC8b Transfer of substance or preparation (charging/ discharging) from/ to vessels/ large containers at dedicated facilities

PROC9 Transfer of substance or preparation into small containers (dedicated filling line, including weighing)

PROC10 Roller application or brushing

PROC15 Use as laboratory reagent

Environmental Release Categories

ERC1 Manufacture of substances

ERC2 Formulation of preparations

ERC6a Industrial use resulting in manufacture of another substance (use of intermediates)

ERC6b Industrial use of reactive processing aids

Product Categories

PC21 Laboratory chemicals

Follow the link below to open an Interactive Form which allows you to report additional uses.

<http://www.merckmillipore.com/collectingforeach>

An example how to fill in the form is available here:

<http://www.merckmillipore.com/formforeach>

Free short title: Use descriptors related to the professional use (Reagent for analysis)

MERCK Use Information Sheet

Catalogue No. 111355
Product name ICP multi-element standard solution IV (23 elements in diluted nitric acid) 1000 mg/l: Ag, Al, B, Ba, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, In, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Sr, Ti, Zn Certipur®

Identified use descriptors: SU 22 - Professional uses: Public domain (administration, education, entertainment, services, craftsmen)

PROC15

ERC2, ERC6a, ERC6b

PC21

Exposure driving use descriptors

Process Categories

PROC15 Use as laboratory reagent

Environmental Release Categories

ERC2 Formulation of preparations

ERC6a Industrial use resulting in manufacture of another substance (use of intermediates)

ERC6b Industrial use of reactive processing aids

Product Categories

PC21 Laboratory chemicals

Follow the link below to open an Interactive Form which allows you to report additional uses.

<http://www.merckmillipore.com/collectingforeach>

An example how to fill in the form is available here:

<http://www.merckmillipore.com/formforeach>

The information contained herein is based on the present state of our knowledge. It characterises the product with regard to the appropriate safety precautions. It does not represent a guarantee of any properties of the product.

Anexo 3. Concentraciones de As, Pb, Ni, Cu y Zn medidas en ppm

Muestra	Ni (ppm)	Zn (ppm)	Pb (ppm)	Cu (ppm)	As (ppm)
CO-A1	4.327	-	46.61	78.278	3.244
CO-A2	12.734	-	.	-	-
CO-A3	3.102	149.177	35.01	79.885	6.696
CO-A4	10.996	134.002	58.548	-	4.069
CO-A5	19.543	-	19.533	-	16.737
CO-A6	8.925	151.891	11.163	-	8.821
CO-A7	8.194	147.639	10.975	81.005	10.888
CO-A8	3.033	204.576	22.868	66.364	10.349
CO-B1	9.635	111.453	-	87.017	-
CO-B2	8.219	140.223	-	53.668	-
CO-B3	6.067	122.968	4.003	63.017	12.104
CO-B4	12.325	-	-	96.562	-
CO-B5	3.816	170.087	12.433	61.457	8.971
CO-B6	4.684	182.379	31.07	84.545	6.795
FA-A1	12.741	153.678	23.673	91.273	6.113
FA-A2	10.79	224.25	12.614	80.772	3.461
FA-A3	11.748	113.462	24.475	-	5.516
FA-A4	9.602	155.703	-	-	-
FA-B1	-	104.269	-	-	-
FA-B2	9.107	122.44	18.79	104.618	5.748
FA-B3	-	92.308	16.176	88.857	4.902
FA-B4	12.05	150.849	-	90.831	-
ES-A5	11.425	218.244	22.141	94.41	17.436
ES-A6	9.355	64.563	17.042	88.012	2.586
ES-A7	10.21	93.697	-	92.404	-
ES-A8	10.099	98.377	19.732	101.696	6.071
ES-B5	10.691	65.072	-	87.969	-
ES-B6	11.451	108.169	38.471	-	3.538
ES-B7	9.58	69.504	17.312	-	5.929
CAR-A1	1.955	-	-	98.726	-
CAR-A2	10.448	127.537	23.172	-	6.22
CAR-A3	11.683	-	-	92.499	-
CAR-A4	16.793	234.263	7.223	85.182	14.389
CAR-A5	10.42	101.575	29.104	63.343	4.681
CAR-A6	11.103	157.302	30.934	87.199	19.043
CAR-A7	7.954	223.511	33.97	-	17.066
CAR-A8	4.123	99.041	31.316	-	6.228
CAR-B1	10.349	208.482	28.646	76.045	12.896
CAR-B2	13.469	-	-	95.578	-
CAR-B3	10.932	-	-	93.999	-
CAR-B4	7.154	140.906	15.944	54.713	11.5

CAR-B5	10.949	-	-	-	-
CAR-B6	5.326	153.529	40.047	-	9.951
CAR-B7	4.654	118.166	30.438	-	5.485
MAN-A1	11.013	165.636	-	82.835	7.5
MAN-A2	9.785	130.713	16.959	83.912	7.033
MAN-A3	12.248	-	-	74.902	-
MAN-A4	10.92	-	-	-	-
MAN-A5	11.671	245.438	15.284	-	13.536
MAN-A6	4.944	94.012	50.018	65.98	8.34
MAN-B1	9.744	202.038	25.805	74.261	8.159
MAN-B2	8.38	202.038	15.014	71.412	-
MAN-B3	9.198	-	11.343	87.888	12.284
MAN-B4	8.271	258.085	13.402	86.809	9.157
MAN-B5	8.2	156.549	18.646	-	10.697
MAN-B6	8.559	175.342	32.281	80.331	7.105
MAN-B7	5.198	127.031	18.236	69.178	3.469
SO-A1	8.655	230.405	8.063	85.601	16.445
SO-A2	14.616	150.229	21.93	118.84	11.067
SO-A3	8.353	120.225	21.042	89.455	9.636
SO-A4	8.293	148.112	10.335	81.083	9.987
SO-A5	11.487	206.744	40.62	145.578	8.012
SO-A6	7.684	138.815	35.653	155.207	6.475
SO-A7	7.935	159.996	12.673	123.068	6.992
SO-B1	8.319	101.117	22.221	90.647	5.355
CU-B1	13.881	193.891	5.189	108.725	9.563
CU-B2	11.764	174.705	43.678	153.278	3.366
CU-B3	7.348	111.34	26.632	106.022	1.879
CU-B4	5.25	115.432	1.185	64.919	8.581
CU-B5	10.027	190.641	41.011	133.481	2.987
CU-A1	7.806	132.606	6.757	87.052	5.955
CU-A2	8.795	149.578	11.189	126.03	3.038
COL-A1	6.365	155.511	18.056	94.897	11.382
COL-A2	9.198	136.004	12.277	106.436	8.177
COL-A3	6.289	159.277	6.595	88.352	5.958
COL-A4	7.945	297.724	13.353	92.005	3.797
COL-A5	11.561	147.227	5.566	71.979	9.45
COL-A6	9.35	126.34	11.956	104.058	5.34
COL-A7	7.97	113.477	13.10489	122.589	6.791
COL-A8	8.867	332.613	12.896	105.389	7.13
COL-A9	20.026	105.75	-	108.021	-

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Almaguer M., Herrera R., Orantes M. (2014). Chronic Kidney Disease of Unknown Etiology in Agricultural Communities. *MEDICC Rev.*, 16, 9.
2. Arauz D. et al. (2013). Nivel de Contaminación y Distribución Espacial de Metales Pesados en Sedimentos Superficiales de Bahía Damas, Isla Coiba. *RIDTEC Rev.* 9, 14
3. Bernard Valeur. (2001). Introduction: Fluorescence and other de-excitation processes of excited molecules, *Molecular Fluorescence Principles and Applications*. Wile y-VCH Verlag GmbH. 8 -10.
4. Bernard Valeur. (2001). Introduction: Fluorescence and other de-excitation processes of excited molecules, *Molecular Fluorescence Principles and Applications*. Wile y-VCH Verlag GmbH. 35.
5. Bounakhla M. & Tahri M. (2006). X-Ray Fluorescence Analytical Techniques. *CNESTEN*. 8.
6. Bounakhla M. & Tahri M. (2006). X-Ray Fluorescence Analytical Techniques. *CNESTEN*. 25.
7. Coaguila D. et al. (2013). Análisis comparativo de métodos de interpolación espacial utilizando datos de evapotranspiración. *Anais XVI Simposio Brasileiro de Sensoriamento Remoto (SBSR)*, Brasil.
8. Brian Cross (2011). *XRS-FP Software Guide V.4.6.0*. CrossRoads Scientific
9. Fernández C. et al. (2015). Interacción de la radiación con la materia. *Protección Radiológica*. Instituto Balseiro-Bariloche-Argentina.
10. García C. et al. (2002). Metales pesados y sus implicaciones en la calidad del suelo. *Ciencia y Medio Ambiente Rev.*, 125-138.
11. Hagen Stosnach. (2013). Lab Report XRF 435 S2 PICOFOX Why Wait for Sample Prep! Shortest Time-to-Result through TXRF. *Rev.* 1.1. Bruker Nano GmbH.
12. Herrera R. et al. (2014). Clinical Characteristics of Chronic Kidney Disease of Nontraditional Causes in Salvadoran Farming Communities. *MEDICC Rev.*, 16, 39. .
13. Isabel Sánchez. (2003). Determinación de metales pesados en suelos de Mediana del Campo (Valladolid): contenidos extraíbles, niveles fondo y de referencia (Tesis de doctorado en Química). Universidad de Valladolid, España.
14. Jayasumana C. et al. (2016). Chronic interstitial nephritis in agricultural communities: a worldwide epidemic with social, occupational and environmental determinants. *NDT Advance Access*, 0, 1–8.
15. José Negrete. (2011). *EVALUACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN POR METALES PESADOS EN LA CIÉNAGA LA SOLEDAD Y BAHÍA DE CISPATÁ, CUENCA DEL BAJO SINÚ, DEPARTAMENTO DE CÓRDOBA*. Proyecto presentado para la convocatoria interna de la Universidad de Córdoba. España.
16. José Todolí. (2013). *Métodos espectroscópicos de análisis*. Biblioteca de Recursos Universia.
17. Ladisich W. et al. (1994). Total reflection x-ray fluorescence analysis with monoenergetic excitation using rotating anode x-ray tubes. *Nucl. Instrum. Meth. Phys. Res.* 330A, 501–506
18. Meléndez C. & Camacho A. (2009). Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X. *Aventuras del pensamiento Rev.*, 1, 1.
19. MINISTERIO DEL AMBIENTE. Perú. (2014). *GUÍA PARA MUESTREO DE SUELOS*.
20. National Academies Press. Washington, DC (2015). *Airport Passenger Screening Using Backscatter X-Ray Machines: Compliance with Standards*.
21. Orantes M. et al. (2016). Enfermedad renal crónica en niños y adolescentes en las comunidades agrícolas de El Salvador: Estudio NefroSalva Pediátrico (2009-2011). *MEDICC Rev.*, 18, 1–2

22. Orantes M., Herrera R., Almaguer M. (2014). Epidemiología de la enfermedad renal crónica en los adultos de las comunidades agrícolas salvadoreñas. *MEDICC Rev.*, 16, 31.
23. Orantes-Navarro et al. (2017). Toward a Comprehensive Hypothesis of Chronic Interstitial Nephritis in Agricultural Communities. *Adv. Chronic Kidney Dis.* 24, 101-106
24. Patiño M. et al. (2006). Tóxicos Renales. *Fac Med UNAM Rev.*, 49, 34.
25. Peter Atkins & Julio de Paula. (2010). *Physical Chemistry*. Ninth edition.
26. Poza F., & Ballesta D. (1995). NEFROTOXICIDAD. AGENTES Y SUSTANCIAS NEFROTÓXICAS. *SEDEN Rev.*, 2, 1.
27. QXAS Quantitative X-ray Analysis System. IAEA. (2005).
28. Ramón García-Trabanino et al. (2017). Nefropatía mesoamericana: revisión breve basada en el segundo taller del Consorcio para el estudio de la Epidemia de Nefropatía en Centroamérica y México (CENCAM). *nefrolatinoam Rev.*, 14, 39–45.
29. Raúl Henríquez (2013). Determinación de contaminación por metales pesados en suelos de la zona rural del bajo Lempa por medio de Fluorescencia de Rayos X (Tesis de licenciatura en Física). Universidad de El Salvador. El Salvador.
30. Raymond A. & Okieimen F. (2011). Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation. *ISRN Ecology Rev.*, 2011, 1-20.
31. Rodríguez J. & Corbí M. (2007). EL GIS COMO HERRAMIENTA EN EL ESTUDIO DE LA VARIACIÓN ESPACIAL DEL CONTENIDO DE METALES PESADOS EN SUELOS AGRÍCOLAS DE ESPAÑA. XI Conferencia Iberoamericana de Sistemas de Información Geográfica. España.
32. S2 PICOFOX. Manual de usuario. (2012). Espectrómetro de TXRF para el análisis de Elementos. Bruker Nano GmbH, Berlin, Germany.
33. Schlott R. & Uhlig S. (2006). Introduction to X-ray Fluorescence Analysis (XRF). Bruker AXS GmbH, Karlsruhe.
34. Valentinuzzi M. (2008). ANALISIS POR FLUORESCENCIA DE RAYOS X: IMPLEMENTACION DE GUIAS DE HACES EN REFLEXION TOTAL (Tesis de Doctorado en Física). UNIVERSIDAD NACIONAL DE CORDOBA. España.
35. Von Bohlen. (2004). Use of TXRF for analysis of artefacts. *e-Ps Rev.*, 4, 23-24.
36. WAGENINGEN UNIVERSITY ENVIRONMENTAL SCIENCES, WAGENINGEN EVALUATING PROGRAMS, Certificate of Analysis, International Soil-Analytical Exchange, REFERENCE MATERIAL ISE sample 998 ISE sample 951 FOR ANALYTICAL LABORATORIES
37. Wolfgang Demtröder. (2006). *Atoms, Molecules and Photons*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg