

INFORME FINAL PROYECTO

"DISEÑO Y APLICACIÓN DE UNA METODOLOGÍA PARA LA EVALUACIÓN INTEGRADA DE RIESGOS AMBIENTALES EN SITIOS PELIGROSOS DE MÉXICO"

Leticia Carrizales, Yolanda Jasso, Guillermo Espinosa-Reyes, Arturo Torres-Dosal
y Fernando Díaz-Barriga

Departamento de Toxicología Ambiental
Facultad de Medicina
Universidad Autónoma de San Luis Potosí

Av. Venustiano Carranza No. 2405, 78210, San Luis Potosi, SLP, México
Teléfono y Fax (444) 8262354, correo electrónico fdia@uaslp.mx

DISEÑO Y APLICACIÓN DE UNA METODOLOGÍA PARA LA EVALUACIÓN INTEGRADA DE RIESGOS AMBIENTALES EN SITIOS PELIGROSOS DE MÉXICO - CASO DE ESTUDIO VILLA DE LA PAZ, S.L.P.

INTRODUCCION

Por riesgo integrado se entiende la evaluación simultánea de los riesgos en salud humana y en salud ecológica. En este proyecto, para salud humana se estudiaron niños empleando el uso de biomarcadores de exposición a plomo y arsénico y biomarcadores de daño al ADN. En tanto, para salud ecológica, se empleó como organismo centinela a ratones nativos del sitio, para los cuales también se estudió la exposición a metales y el nivel de daño al ADN. Los resultados en la zona minera evaluada demuestran que tanto niños como ratones se encuentran expuestos a metales pesados y en ambos, el daño al ADN en los individuos expuestos es mayor que en las poblaciones controles no expuestas. Es evidente entonces, que los seres vivos se encuentran en riesgo en el sitio estudiado y que por ende, el programa de restauración deberá considerar proteger, no solamente a la población humana sino también, a los organismos de la biota. Ante las evidencias generadas, la pregunta que resulta es la siguiente, ¿Por qué en el estudio se utilizaron mamíferos roedores y no otro tipo de fauna o de flora? Se consideró que la selección del organismo centinela, sea de flora o fauna, debe tomar en cuenta la principal ruta de exposición, que en el caso del sitio minero es la ruta suelo/polvo. Además, la selección también debe reconocer la rapidez y la validez de la interpretación del estudio. Por ejemplo, empleando ratones se obtuvieron datos y la interpretación de los mismos en dos meses. Por el contrario, si se utilizan plantas como organismo centinela, en 18 meses el único dato claro que se ha obtenido entre una zona expuesta y otra zona control, es que en la primera existen menos especies y menos individuos de cada una de ellas (menor biodiversidad). Si bien, el dato es importante, no parece factible proponer una metodología que requiera 18 meses sólo para levantar el indicador de biodiversidad. En consecuencia, la primera conclusión de esta experiencia es que, para evaluar el riesgo ecológico, el empleo de organismos centinelas provenientes de la fauna local, permite resultados preliminares muy importantes y de calidad, en un menor período de tiempo. Sin embargo, es evidente que si se desea establecer el efecto a un mayor nivel de complejidad, los indicadores de

daño poblacional son más accesibles de estudiar empleando flora y fauna. La pregunta sería entonces, ¿En una metodología de riesgo integrado, para la sección ecológica, puede ser suficiente la investigación a nivel organismo sin tener que escalar a evaluar el daño poblacional o comunitario? Con los datos reportados en el presente estudio, el grupo de investigación que desarrolló la metodología considera que sí, debido a que se demuestra que existe un efecto potencial a nivel ecológico. A continuación se presenta primero el estudio de riesgo humano y enseguida el riesgo para los receptores ecológicos. Al final, se hace una caracterización del riesgo integrando los datos de ambos.

SITIO MINERO DE VILLA DE LA PAZ

México tradicionalmente se ha caracterizado por ser una potencia minera. En la actualidad ocupa los primeros lugares mundiales en la producción de arsénico, cadmio, plomo, mercurio, fluorita, bario, etc. Esta gran producción se debe a que las zonas mineras mexicanas se localizan en extensas áreas del territorio nacional. Así, la minería ha llegado a convertirse en un sector económico de gran importancia para estados como Guanajuato, Sonora, Chihuahua, Durango, Zacatecas, San Luis Potosí e Hidalgo. Por consiguiente, los sitios mineros abundan y su impacto en salud merece ser analizado.

En un sitio minero, son dos las principales fuentes contaminantes: el proceso primario de tratamiento de metales y la generación de residuos mineros (jales). De hecho, la minería genera el 65 % de los residuos industriales en México. En un sitio minero, entonces, las principales rutas de exposición podrían ser el material particulado en el aire; el suelo contaminado (por el polvo generado desde la mina, por el material proveniente de los jales o por la deposición del material particulado del aire); el polvo contaminado; e inclusive, dependiendo del área geográfica, la contaminación de cuerpos de agua por el lavado de jales o de suelos contaminados. En consecuencia, las zonas mineras deberían ser consideradas sitios potencialmente peligrosos. Para los cuales debería establecerse una metodología especial para su estudio.

En este trabajo se presenta la evaluación integrada del riesgo en salud de la zona minera del municipio de Villa de la Paz, San Luis Potosí. De acuerdo a la monografía minera del estado potosino, en este municipio, existen tres minas que producen plata, oro, plomo, cobre y zinc. Además, en dos de las minas existe arsenopirita. Los residuos de la actividad minera se han ido acumulando al paso del tiempo, llegando a formar una "montaña" de material fino (que en este trabajo denominaremos "depósito"). Los residuos se encuentran al aire libre y por consiguiente, han logrado impactar al ambiente de diversas maneras. En época de lluvia el material es transportado por escurrimientos superficiales hasta un arroyo intermitente (Arroyo de la Paz), el cual a su vez transporta el residuo minero más de 15 km gradiente abajo, hasta que se introduce al subsuelo a

través de fracturas geológicas. En época de estiaje, el sedimento seco del arroyo y el material del depósito son transportados por el viento hasta zonas agrícolas y áreas residenciales vecinas, respectivamente. En la zona de mayor concentración de metales y por tanto de mayor riesgo, que sería el área urbana próxima a la mina, la gente reporta molestia por el polvo proveniente de la mina. En el ejido "La Carbonera", donde el material arrastrado por el Arroyo de La Paz contaminó tierras de cultivo, las quejas escuchadas fueron en el sentido de la productividad de la tierra, pero no referentes a riesgos en salud. Es importante hacer notar que la región minera de Villa de la Paz, también afecta al municipio de Matehuala, ciudad de aproximadamente 80 mil habitantes ubicada a 10.0 km gradiente abajo del depósito minero.

Contaminación de suelos y sedimentos.

La explotación y beneficio de los recursos minerales, históricamente no controlados (desde un punto de vista ambiental), en el distrito minero de Sta. María de la Paz, ha provocado que se presente una extensa contaminación de suelos y sedimentos por arsénico y metales pesados (Pb, Zn, Cu) en el área de Villa de la Paz-Matehuala, S.L.P. Los análisis químicos de muestras de suelo reportaron concentraciones en los rangos de 19-17,384 mg/Kg arsénico, 15-7,200 mg/Kg cobre, 31-3,450 mg/Kg plomo y 26-6,270 mg/Kg zinc, mientras que en sedimentos de arroyos y de tanques de almacenamiento de agua pluvial las concentraciones encontradas varían de 20-28,600 mg/Kg arsénico, 50-2,160 mg/Kg plomo, 50-3630 mg/Kg cobre, y 110-5940 mg/Kg zinc (Razo *et al.*, 2004).

Las evidencias en campo, el análisis estadístico por componentes principales, la obtención de mapas de iso-concentración de arsénico y metales pesados en suelo y el análisis de los contaminantes al microscopio electrónico de barrido, permitieron identificar las principales fuentes de contaminación dentro del área de estudio: presas de jales históricas y activas, terreros, emisiones atmosféricas de antiguas plantas de fundición y depósitos históricos de escorias de fundición.

Estos resultados sugieren que la dispersión de arsénico y metales pesados, desde sus fuentes potenciales, está principalmente asociada a:

- el transporte fluvial de residuos mineros (terreros y principalmente jales) a través de arroyos que drenan el sitio en dirección W-E. Esto ocurre durante los eventos de lluvias torrenciales, transportándose las partículas de contaminantes desde los taludes no estabilizados de las presas de jales a través de los arroyos, hacia las zonas de baja energía en el Valle de Matehuala, donde se concentran los contaminantes y permanecen susceptibles de alteración y movilidad.
- el transporte eólico de partículas minerales, principalmente desde la presa de jales) en dirección SW-NE. Esto ocurre sobre todo durante la época seca con predominio de tolvaneras, contaminando la Colonia Real de Minas desde las presas de jales.

Debe señalarse que 84% de las muestras de suelo tanto en áreas urbanas como rurales presentaron una concentración de arsénico mayor de 100 mg/Kg, la cual es considerada por la Agencia de Protección al Ambiente de los Estados Unidos (USEPA) como el nivel máximo permisible a partir del cual se recomienda la remediación de un sitio.

En el caso del plomo, los resultados fueron comparados con dos diferentes guías ambientales definidas por la misma USEPA: [1] la que refiere a la máxima concentración permisible a partir de la cual se recomienda la remediación de suelo en áreas de recreación infantil (400 mg/Kg plomo); y [2] la que refiere a la máxima concentración a partir de la cual se recomienda la remediación de suelos de uso común (1200 mg/Kg Pb). En el área de estudio, el 10 % de las muestras de suelo en áreas urbanas y 2 % en áreas rurales presentaron una concentración de plomo mayor a la guía de 1200 mg/Kg de plomo. En cambio, una diferencia más significativa puede observarse con respecto a la guía de 400 mg/Kg: 19% de las muestras de suelo en áreas rurales y el 38% de las muestras en áreas urbanas, presentaron una concentración más alta que esta guía.

Estas guías para arsénico y plomo fueron seleccionadas como referencia debido a la carencia de normas mexicanas que establezcan las concentraciones máximas permisibles para recomendar la remediación de suelos en sitios contaminados por metales tóxicos.

Contaminación de agua superficial y subterránea.

Como parte del estudio, se analizó la concentración de arsénico en muestras de agua superficial procedentes de tanques de almacenamiento de agua pluvial, de canales de agua de mina y de dos sistemas de pozos y canales donde circula agua natural, que afloran estos últimos al este de Matehuala en las comunidades conocidas como Cerrito Blanco y Carbonera Figura 1.

La máxima concentración de arsénico en agua de tanques de almacenamiento de agua pluvial recolectada a través de arroyos que drenan el sitio en áreas cercanas a las potenciales fuentes de contaminación ($265 \mu\text{g/L}$), exceden más de 5 veces al límite máximo permisible ($50 \mu\text{g/L}$) establecido por la Norma Oficial Mexicana de calidad de agua de uso y consumo humano (NOM-127-SSA1-1994). La concentración de arsénico en el agua en estos tanques y en el sedimento de los arroyos disminuye conforme se incrementa la distancia desde las potenciales fuentes de contaminación, Figura 1.

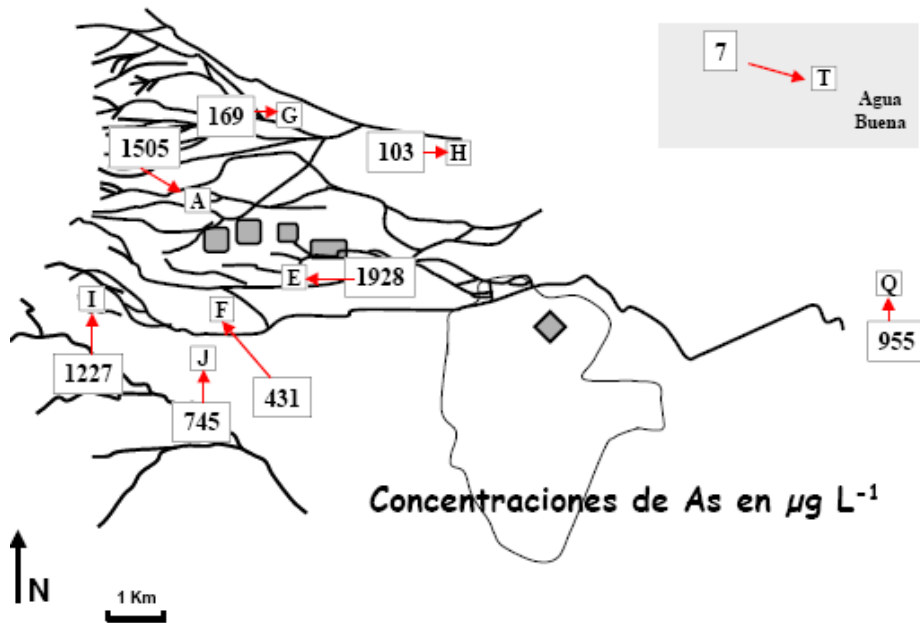


Figura 1. Concentración de As en corrientes de agua en Villa de la Paz (Razo et al 2004)

En lo que respecta a los sistemas de pozos y canales donde circula agua natural, uno de ellos inicia atrás del Instituto Tecnológico de Matehuala, siendo el agua recolectada hasta abril de 2002 en un tanque situado en la comunidad de Cerrito Blanco, 5 Km al este de Matehuala. Este tanque de recolección de agua, así como las pozas que constituyen el sistema, han sido aprovechados por la población infantil y juvenil de la región para actividades recreativas, por lo que existe interés del Presidente Municipal de Matehuala por instalar ahí un centro recreativo.

En el análisis de muestras de agua (filtrada y no filtrada) procedentes de varios sitios de este sistema de pozos y canales de Cerrito Blanco, se encontraron concentraciones de arsénico en agua entre 4,800 y 7,000 $\mu\text{g/L}$. Este contenido de arsénico excede por más de 100 veces al límite máximo permisible (50 $\mu\text{g/L}$ As) por la Norma Oficial Mexicana de Calidad de Agua para consumo humano (NOM-127-SSA1-1994), siendo también 500 veces superior al contenido de arsénico en agua natural no contaminada en el área (10 $\mu\text{g/L}$ As), encontrada en el otro sistema de pozos y canales, que llega a la Carbonera.

La concentración de arsénico disuelto en el agua natural de Cerrito Blanco es superior al valor máximo reportado hasta ahora en el mundo para aguas naturales contaminadas por arsénico (5000 $\mu\text{g/L}$ As) y tan elevada como los valores máximos reportados para aguas ligeramente alcalinas contaminadas por actividad minera (5000-7500 $\mu\text{g/L}$ As) Razo *et al.*, 2004.

Además, los sedimentos del sistema de pozos, canales y tanque de recolección de agua de Cerrito Blanco se encuentran también contaminados por arsénico, en concentraciones entre 400 y 1500 mg/Kg. Aun cuando no existe una norma oficial mexicana para sedimentos en cuerpos de agua natural, estos valores son por ejemplo, más de 200 veces superiores al valor máximo permisible por las Guías Ambientales Interinas del Canadá (5.9 mg/Kg para arsénico) (Canadian Environmental Quality Guidelines 2002).

Dadas las concentraciones de arsénico en el agua y sedimento del sistema de "pozos-canales" de Cerrito Blanco, el agua no debe ser utilizada para consumo humano, debe vigilarse su uso agrícola, y debido a la ingesta accidental que

puede ocurrir durante las actividades de recreación, no se recomienda la instalación del Centro Recreativo de Cerrito Blanco. A nivel de exposición aguda, el arsénico es un neurotóxico que afecta sobre todo a la población infantil. En eventos de exposición crónica, el arsénico es capaz de causar cáncer en diferentes órganos.

A este documento se le anexa una publicación con información detallada del sitio minero de Villa de la Paz.

RIESGO EN SALUD HUMANA

GENOTOXICIDAD EN NIÑOS QUE VIVEN EN LA ZONA MINERA DE VILLA DE LA PAZ

INTRODUCCIÓN

La zona minera de Villa de la Paz se ha explotado por más de 200 años. El material que se extrae del subsuelo, rico en sulfuros polimetálicos, ha provocado que se hayan depositado un gran volumen de residuos mineros tipo terreros y jales en los alrededores del poblado de Villa de la Paz; lo que implica riesgo a la salud para los habitantes de estos lugares. En un monitoreo ambiental se analizaron muestras de suelo, sedimentos de arroyos y de tanques de almacenamiento de agua pluvial, encontrándose que los principales contaminantes en este sitio son el arsénico y el plomo (Razo *et al.*, 2004).

Entre las alteraciones que se presentan cuando hay exposición a arsénico se encuentran los efectos neurológicos, dérmicos y genotóxicos (ATSDR, 1999). En tanto, la exposición a plomo tiene efectos neurotóxicos, hematológicos, reproductivos y genotóxicos (ATSDR, 1999).

Por lo anterior, se decidió evaluar el daño genotóxico en los niños que están expuestos de manera simultánea a plomo y arsénico. Como prueba genotóxica se utilizó del ensayo cometa para medir el daño al ADN (Moller, *et al.*, 2000).

Se planteó la hipótesis de que los niños que viven en sitios contaminados con arsénico y plomo presentan una asociación entre la exposición a estos metales y los marcadores de daño genotóxico.

En el estudio se incluyeron niños habitantes del municipio de Soledad de Graciano Sánchez, S.L.P. Éste escenario representa uno de menor exposición ha As y Pb por ello se utiliza como población control en el presente trabajo.

Eliminado: Mapa

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo con niños cuyos padres aceptaron la participación voluntaria de sus hijos, con edades entre 4 y 11 años y con un mínimo de dos años de residencia en la zona. Se recolectó la primera orina de la mañana en un recipiente de polietileno lavado previamente con HNO_3 al 10% enjuagado con agua desionizada. La muestra de sangre se obtuvo por punción venosa, colocándose en un tubo vacutainer que contenía EDTA como anticoagulante. Se tomaron muestras a 70 niños: 60 de Villa de la Paz y 10 de Soledad de Graciano Sánchez.

Cuantificación de plomo en sangre. La concentración de plomo en sangre se cuantificó de acuerdo al método descrito por Subramanian (1987). Se preparó un blanco y una curva de calibración a partir de una solución stock de 1ppm de plomo, donde la concentración de los estándares fue de 10, 20, 40 y 80 ppb de plomo. También se utilizaron estándares del CDC (Centro para el Control de las Enfermedades de los Estados Unidos) como control de calidad. El contenido de plomo en las muestras se determinó por espectrofotometría de absorción atómica, en un aparato Perkin Elmer 3110, con horno de grafito. Todas las muestras se analizaron por duplicado. Se evaluaron 60 muestras de Villa de la paz y 10 de Soledad de Graciano Sánchez.

Cuantificación de arsénico en orina. De la orina recolectada se tomaron alícuotas en tubos de polipropileno de 5 mL y se congelaron a -20°C hasta el momento de su análisis. La concentración de arsénico en orina se cuantificó de acuerdo al método descrito por Cox (1980). Se prepararon estándares para la curva de calibración de 0.5, 1.0, 5.0, 10, 15 y 20 ppb de arsénico y se sometieron al mismo proceso de digestión que las muestras, incluyendo también el estándar utilizado de NIST (National Institute of Standards & Technology). Las muestras se analizaron con un espectrofotómetro de absorción atómica con generador de hidruros, registrando las lecturas de cada una para obtener las concentraciones de arsénico. El valor obtenido se corrigió por el volumen de orina digerida y por la concentración de creatinina para eliminar el factor de dilución. Todas las muestras

se analizaron por duplicado. Se evaluaron 60 muestras de Villa de la paz y 10 de Soledad de Graciano Sánchez.

Evaluación del porcentaje de cometas en células sanguíneas. Las laminillas para evaluar el daño al ADN se prepararon de acuerdo al método descrito por Rojas (1999). Después de retirar las laminillas de la solución de lisis se pusieron en una cámara de electroforesis; ésta se llenó con buffer alcalino (NaOH 10N y EDTA 200 mM, pH ajustado a 13). Se dejó actuar la solución 20 minutos y después se aplicó corriente de 25 V y 300 mA por 20 minutos. Después de la electroforesis se retiraron las laminillas y se lavaron en forma abundante con solución de Trisma base y con etanol absoluto, dejándose secar antes de guardarse. Las laminillas se examinaron usando un microscopio de fluorescencia Eclipse E 400 de la marca Nikon, añadiendo bromuro de etidio, y cubriendo la laminilla para su observación. Para calcular el daño, se seleccionan al azar 100 células y se mide la longitud y la densidad de la cola del cometa con un software Komet versión 4. Se evaluaron 60 muestras de Villa de la paz y 10 de Soledad de Graciano Sánchez.

RESULTADOS

El cuadro 1 contiene la concentración de arsénico en orina y de plomo en sangre de los niños muestreados, donde se puede observar que para arsénico, el 32 % se encuentra por arriba de los límites de acción que marca el CDC. En lo referente al plomo el 60 % se encuentra por encima del valor de referencia.

Cuadro 1. Concentraciones de Pb en sangre y arsénico en orina de los niños residentes de la zona de Villa de la Paz-Matehuala

Biomarcador	Media	Desviación estándar	Mín. – Máx.	%>límite de acción de CDC
Arsénico (µg/g creat.)	45.5	32.7	11 - 166	32
Plomo (µg/dL)	11.5	4.7	2 - 23	60

n = 60. Los límites son: 50 µg/g creat para arsénico y 10 µg/dL para plomo.

La información sobre las concentraciones de arsénico y plomo encontradas en la población control se encuentra en el cuadro 2, de esta forma se confirma que los niños que viven en este lugar están menos expuestos a estos contaminantes.

Cuadro 2. Concentraciones de plomo en sangre y arsénico en orina de los niños residentes de Soledad de Graciano Sánchez.

Biomarcador	Media	Desviación estándar	Mín. – Máx.	%>límite de acción de CDC
Arsénico (µg/g creat.)	15.2	8.9	5.2 – 27.6	0
Plomo (µg/dL)	5.1	2.1	2.3 – 8.4	0

n = 10. Los límites son: 50 µg/g creat para arsénico y 10 µg/dL para plomo.

En el cuadro 3 se muestran los valores (momentos) obtenidos al evaluar el daño al ADN en las poblaciones estudiadas. En la zona Villa de la Paz-Matehuala se encontró un promedio de 5.1 y en Soledad de Graciano Sánchez (sitio control) un promedio de 3.4 (diferencia estadísticamente significativa). En la zona minera, el 75 % de los niños están por encima del valor considerado normal (datos del laboratorio) (< 4) y en la población control encontramos un 20 % que rebasa esta medida, pero con valores muy cercanos a 4.

Cuadro 3. Daño al ADN (momento) en células sanguíneas de los niños incluidos en el estudio.

Localidad	n	Biomarcador	Media	Desviación estándar	Mín. – Máx.	% > Valor normal
Zona Villa de la Paz-Matehuala	60	Daño al ADN	5.1	1.3	2.6 – 8.9	75
Soledad de Graciano Sánchez	10	Daño al ADN	3.4	0.6	2.5 – 4.4	20

El valor normal es menor a 4.0 (Datos del laboratorio).

Estudios genotóxicos muestran que el arsénico sufre cambios metabólicos con la producción de dos especies metiladas. Durante este proceso se desprenden especies reactivas de oxígeno que pueden producir daño al ADN (Saleha-Banu *et al.* y Nesnow *et al.*, 2002). El arsénico también puede ocasionar daño al ADN por la formación de aductos ADN-proteína (Mouron *et al.*, 2005) y por la disminución de la actividad de algunas enzimas, incapacitando así a la célula para reparar los daños ocasionados al material genético (Hartwig *et al.*, 2001).

CONCLUSIONES

Con los resultados que se obtuvieron, se puede decir que los niños de la zona Villa de la Paz-Matehuala están expuestos a plomo y arsénico, como lo demuestran las concentraciones encontradas en sangre y orina de estos contaminantes.

Se pueden asociar las concentraciones elevadas de Arsénico en los niños de la zona Villa de la Paz-Matehuala con el daño al ADN encontrado; sin embargo no se puede precisar el papel que desempeña la exposición simultánea a otros metales como el Plomo, Cobre y Zinc presentes también en la zona.

No se encontró correlación entre los niveles de arsénico y el daño al ADN, ya que el Daño al ADN es un biomarcador crónico y los niveles de arsénico urinario representan una exposición reciente a este contaminante.

RIESGO EN SALUD ECOLÓGICA

GENOTOXICIDAD EN RATONES NATIVOS DE LA ZONA MINERA DE VILLA DE LA PAZ

INTRODUCCIÓN

En diversos trabajos se ha demostrado que hay contaminación por metales en pequeños mamíferos (Clark, 1979; Talmage y Walton, 1991; Macnair *et al.*, 2000; Torres *et al.*, 2001; Ieradi *et al.*, 2003; Sumbera *et al.*, 2003; Swiergosz-Kowalewska *et al.*, 2005). Cuando hay niveles altos de metales en el ambiente es posible evaluar concentraciones de metales en órganos blanco (hígado y riñón) de roedores silvestres. Razo *et al.*, (2004) realizaron un monitoreo ambiental en la zona minera de Villa de la Paz – Matehuala, analizaron muestras de suelo, sedimentos de arroyos y de tanques de almacenamiento de agua pluvial. Estos autores registraron que los principales contaminantes en este sitio son arsénico y plomo.

Los efectos de metales como plomo y arsénico están bien documentados en humanos, gracias a los estudios realizados en modelos animales. Sin embargo, en roedores silvestres no existen muchos datos. Clark (1979) registró que el plomo ocasiona anomalías renales en ratones de campo (*Microtus pennsylvanicus* y *Peromyscus leucopus*). Los mamíferos pequeños se han utilizado como biomonitores de la contaminación (Talmage y Walton, 1991).

Una manera de saber si los contaminantes de origen humano afectan a la biota es realizar biomarcadores inespecíficos como el ensayo cometa (Shugart, 2000). Knopper *et al.*, (2005) utilizaron este biomarcador de efecto en roedores silvestres (*Microtus pennsylvanicus*) expuestos a pesticidas. da Silva *et al.*, (2000) utilizaron el ensayo cometa en roedores (*Ctenomys torquatus*) para analizar el riesgo ambiental por la influencia de mina de carbón en Brasil. En este trabajo utilizaremos el ensayo cometa en dos especies de roedores (*Chaetodipus nelsoni* y *Dipodomys merriami*) expuestas a los contaminantes de un sitio minero.

Cuando se demuestra contaminación en suelo, los roedores de hábitos excavadores son candidatos ideales para realizar estudios ecotoxicológicos, ya que al realizar sus madrigueras están en contacto directo con el suelo contaminado, además, el desplazamiento de las especies estudiadas en este trabajo *C. nelsoni* y *D. merriami* es pequeño (43.19 y 36.81 m, respectivamente) (Espinosa-Reyes, 2005), por lo que es muy probable que toda su vida la pasen en esa área. Ambas especies tienen cámaras especiales dentro de sus madrigueras para almacenar semillas, por lo que, seguramente su alimento adsorba metales, teniendo así otra ruta de exposición.

Objetivo General:

- Determinar la exposición de metales pesados en roedores silvestres por medio de biomarcadores de exposición y analizar el efecto genotóxico asociado.

Objetivos específicos:

- Cuantificar de las concentraciones de metales pesados (As, Pb, Cu y Cd y Zn) en el suelo del área Villa de la Paz-Matehuala.
- Determinar concentraciones de metales As, Pb y Cd en hígado y riñón de roedores presentes en el sitio contaminado y en un sitio de referencia.
- Evaluar el daño genotóxico utilizando ensayo cometa en los roedores.

Hipótesis:

- Los roedores de Villa de la Paz tendrán mayor concentración de metales en hígado y riñón, además, presentarán mayor daño genotóxico que los roedores de Matehuala.

MATERIALES Y METODOS

Captura de roedores

Los roedores se capturaron en verano en dos sitios ubicados en el norte del estado de San Luis Potosí; Villa de la Paz una región minera (sitio contaminado) y Matehuala (sitio de referencia) Figura 1. Para capturar los roedores se contó con 80 trampas Sherman para captura viva (23x9x7.5 cm); se capturó por dos noches continuas. En cada uno de los sitios se colocaron 40 trampas Sherman arregladas en una cuadrícula de 5 x 10 m (Figura 2). Se capturaron 10 roedores en el sitio minero y 11 en el sitio de referencia. Sin embargo, para realizar el ensayo cometa solo se utilizaron las especies de la familia Heteromyidae (*Chaetodipus nelsoni* (n=8) y *Dipodomys merriami* (n=9)), debido a que ambas especies son granívoras, las más abundantes en la región y tienen hábitos conductuales similares (Best, 1994). En la Figura 3 se muestran las dos especies de roedores de la familia Heteromyidae utilizadas en este estudio

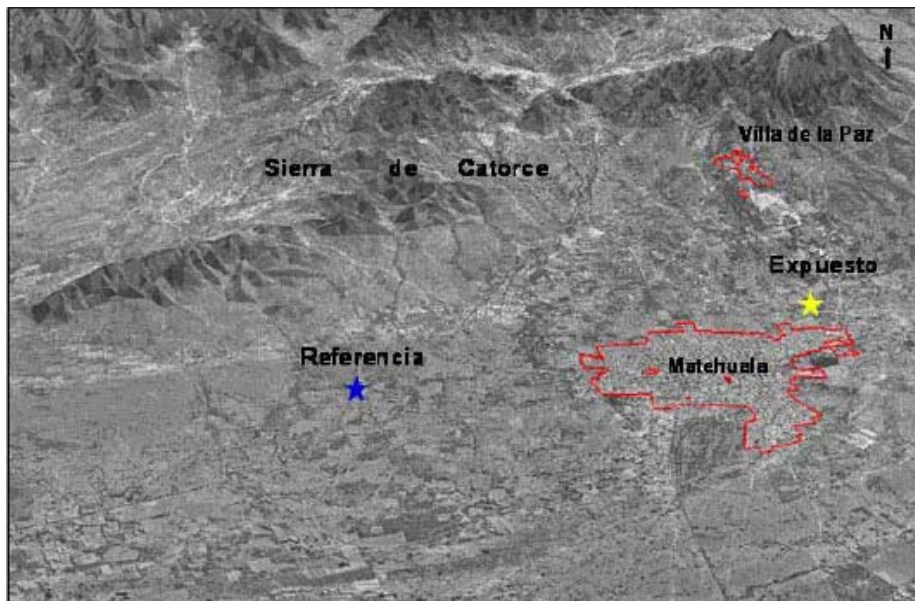


Figura 1: Foto del sitio Villa de la Paz-Matehuala, áreas expuesta y de referencia.

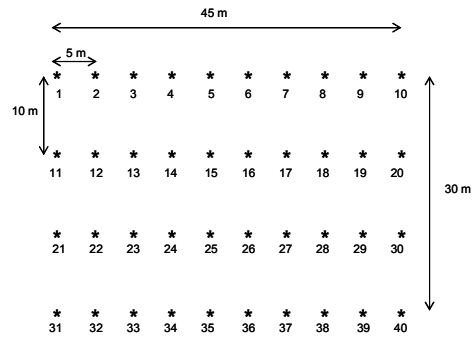


Figura 2.- Colocación de las trampas Sherman para captura viva.



Figura 3.- Especies de la familia Heteromyidae que se eligieron para realizar la cuantificación de metales y el ensayo cometa. a. *Dipodomys merriami*; b. *Chaetodipus nelsoni*.

Se utilizaron hojuelas de avena mezcladas con vainilla como cebo (Boitani y Fuller, 2000; Romero-Almaráz *et al.*, 2000; J. Luévano E., com. pers.) Las trampas se cebaban el primer día y cuando se liberaba algún roedor. En algunas ocasiones, cuando otros animales (hormigas, lagartijas y aves), entraban a la trampa atraídos por el cebo y removían las hojuelas, era necesario reponerlas.

Las trampas se revisaron en la madrugada y en la mañana. Lo anterior se hizo con la finalidad de incrementar el éxito de captura. Para cada captura se anotaba el número de la trampa y se determinaba la especie de roedor. Para ello se sacaba al roedor con ayuda de una bolsa de plástico transparente. Las especies de roedores se determinaron con base en las claves para la identificación de los

mamíferos del altiplano potosino (Mellink, 1984). Los animales capturados se pesaron y se les determinó el sexo.

Los roedores capturados se colocaron en trampas sherman debidamente etiquetadas (fecha, especie, sexo), para ser trasladados al bioterio de la facultad de medicina en el municipio de San Luis Potosí. Los roedores fueron sacrificados (decapitación) para extraerles el hígado y los riñones. Además, se obtuvieron muestras de sangre para poder hacer el ensayo cometa.

Procedimiento de la digestión del suelo

Se pesan 0.5 g de suelo, además se pesa 0.1g del estándar de referencia de arsénico en suelo (NIST 2710), colocar las muestras y estándares en vasos de teflón del horno de microondas, agregando 10 ml de ácido nítrico al 25%. Tapar muy bien (se utilizan membranas de ruptura), introducirlos en las camisas correspondientes, colocarlos en la tornamesa y llevar a cabo la digestión con el siguiente programa. Para los estándares y problemas se procede de la misma manera.

Programa de calentamiento de horno de microondas

Poder	100%
PSI	80%
Tiempo	50 min
TAP	30 min
Ventilación	100%

Al término del programa esperar que se enfríen los vasos y filtrar con papel filtro Watman No 1 etiquetar bien cada tubo, lavar el vaso con 5 mL de HNO₃ al 25% y guardar para su lectura. Verificar que el volumen final sean 15 ml. Control de Calidad utilizar Estándar de referencia 2710 del NIST (National Institute of Standards and Technology) Montana Soil. Concentración, 62600 ± 38 µg/g

Cuantificación de metales en suelo

La cuantificación de metales en suelo de Villa de La Paz y Matehuala se realizó mediante espectrofotometría de absorción atómica. Para Pb y Cd se utilizó el horno de grafito, mientras que para As, Cu y Zn se utilizó generación de hidruros.

Determinación de arsénico por generación de hidruros

Estándar patrón de As de 1 ppm. Tomar 25 μL de la solución de As de 1000 ppm, colocarlos en matraz volumétrico de 25 mL conteniendo agua desionizada y aforar.

Curva de calibración.

Concentración del estándar (ppb)	Vol. del stock de 1 ppm de As (μL).	DIGESTIÓN ÁCIDA	Volumen de resuspensión con HCl al 3%. (mL)
0	0		15
1	25		15
2	50		15
4	100		15
8	200		15
16	400		15

Los estándares se someten al mismo proceso de digestión que se realizó para la muestra.

Se determina la concentración de arsénico en las muestras digeridas en parrillas y en suelo digerido en horno de microondas. La cuantificación se realizará en el espectrómetro de Fluorescencia Atómica de PSA Analytical Modelo 10.055 Millennium Exaclibur.

Reactivos

Solución de KI 50 % m/v en ácido ascórbico al 10 %. Pesar 50 g de KI y 10 g de ácido ascórbico en un vaso de precipitado, adicionar aproximadamente 80 ml de agua desionizada y agitar hasta disolver. Pasar a un matraz volumétrico de 100 mL y aforar con agua desionizada.

Solución de NaBH₄ 0.7 % m/v en NaOH 0.1 M. Pesar 7 g de NaBH₄, pasarlo a un matraz volumétrico de 1 L y disolver en 500 mL de agua desionizada. Añadir 4 g de NaOH y aforar con agua deionizada.

Blanco Reactivo. En un vaso de precipitado de 1 L conteniendo agua desionizada agregar 300 mL de HCL concentrado y 20 mL de la solución de KI 50 % m/v en ácido ascórbico al 10 %. Aforar con agua desionizada hasta 1000 mL.

Para la curva de calibración: En el tubo donde se encuentran los 15 mL del estándar, se le agregan 7.5 mL de HCl conc., 0.5 mL de solución de KI-Ac. Asc. y 2.0 mL de agua desionizada para completar un volumen final de 25 mL.

Para el tratamiento de las muestras: Tomar 5 ml del tubo donde se encuentran los 15 mL de la muestra, se le agregan 7.5 mL de HCl conc., 0.5 mL de solución de KI-Ac. Asc. y 12.0 mL de agua desionizada para completar un volumen final de 25 mL. Anotar el factor de dilución.

Procedimiento.

Colocar los tubos que contienen la curva y muestras en la gradilla del automuestreador, anotar el orden en el programa de la computadora.

Se interpolan las absorbancias de las muestras de orina en la curva de calibración y se obtiene la concentración de arsénico, se corrige el volumen de orina digerida de acuerdo a la dilución trabajada, para reportarse los resultados

Modelación probabilística de la exposición a As por suelo contaminado para *Dipodomys merriami*.

Se efectuó la modelación probabilística de la exposición a As proveniente del suelo para el roedor *Dipodomys merriami* se consideraron tanto los parámetros de bioaccesibilidad gástrica e intestinal, así como la concentración de As en el suelo de las zonas impactadas y de referencia,

La siguiente, es la ecuación que describe la exposición del roedor al As proveniente del suelo:

Dosis de exposición = $(\text{Conc As Suelo} \times \text{TI Suelo} \times \text{bioacc}) / \text{PC}$ [Editor de ecuaciones](#)

Donde:

Conc As Suelo: Es la concentración en partes por millón (ppm) de As en suelo.

TI: Tasa de Ingesta de Suelo; ésta es 2% del total del alimento ingerido, el *Dipodomys merriami* ingiere una cantidad aproximada de 12% de su peso corporal diariamente (EPA 1993).

PC: Peso corporal en Kg.

Biaacc: Bioaccesibilidades gástrica e intestinal del As en suelo.

El modelaje Monte Carlo se realizó a través de una serie de 10,000 interacciones de la ecuación de la exposición por medio del programa Crystal Ball v5.5.

Con formato: Sangría:
Izquierda: 0 pto, Sangría
francesa: 35.4 pto

Procedimiento de digestión ácida de tejidos

Los animales se sacrifican por decapitación e inmediatamente se extraen los tejidos (hígado y riñones) y se prefunden con buffer Tris pH 7.2. Los tejidos se pesan y deben recibir un tratamiento para eliminar la materia orgánica presente, esto se realiza poniendo los tejidos en un vaso de precipitado, adicionando 3 mL de HNO₃ concentrado y 0.5 mL de HClO₄, se cubre con un vidrio de reloj (previamente etiquetado) y se coloca sobre una placa de calentamiento a temperatura baja durante 15 minutos y después se aumenta la temperatura hasta alcanzar los 80° C dejando a reflujo la muestra. Al término de la digestión, se retira el vidrio de reloj llevando la muestra a sequedad. El sedimento contenido en el vaso se resuspende en un volumen de 15 mL de HCl 3%, todo el procedimiento se realiza por duplicado.

Cuantificación de plomo y cadmio en tejidos por horno de grafito.

Se determinó por Espectrofotometría de Absorción Atómica en el equipo Perkin Elmer modelo 3110 con horno de grafito.

Reactivos.

Solución modificador de matriz: Fosfato de amonio 0.5% HNO₃ 0.2%.

Procedimiento.

Se prepara una dilución (de acuerdo a la concentración) del digerido con el modificador de matriz en un recipiente del automuestreador, el cual toma 20 µL de esta solución, los coloca en el tubo de grafito y se lleva a cabo el programa para la lectura de la absorbancia.

Programa del Horno de Grafito.

Paso Num.	Temperatura (°C)	Tiempo (seg) Rampa	Tiempo (seg) Hold
1	120	1	50
2	800	1	30
3	20	1	15
4	1800	0	5
5	2600	1	5

Condiciones del Espectrofotometro:

Longitud de onda (nm)	283
Slit	0.7
Lámpara	Cátodo hueco
Corriente de lámpara (mA)	10.0
Energía (mA)	56.0
Gas utilizado	Argón
Modo de señal	Altura de pico
Tubo de grafito	Pirocubierto con plataforma integrada

Curva de Calibración.

La curva se realizó de la siguiente manera.

Concentración del estándar (ppb)	Vol. del stock de 1 ppm de Pb (µL).	Vol. Solución tritón-modificador (µL)	Volumen final (mL)
0	0	1000	1
10	10	990	1
20	20	980	1
30	30	970	1
60	60	940	1
80	80	920	1

Control de Calidad. Control de calidad Se utilizó el estándar de referencia NBS SRM 2710 que está avalado por el National Institute of Standards and Technology (NIST). Obteniendo 95% de recuperación.

Ensayo cometa en roedores

El método fue el mismo que se utilizó en humanos, excepto que se utilizaron 20 μ l de sangre. Debido a que se utilizaron solo las especies de la familia Heteromyidae se tuvo una muestra de 8 individuos en el sitio de referencia y 9 individuos en el sitio contaminado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuantificación de metales en suelo

El suelo de Villa de la Paz (sitio contaminado) presenta concentraciones mayores para los metales evaluados Pb, As, Cu y Zn que los niveles encontrados en el sitio de referencia. Estos resultados coinciden con los estudios realizados por Razo I y col 2004.

En la Tabla 1 se muestran las concentraciones de metales en suelo de Villa de la Paz (sitio contaminado) y Matehuala (sitio de referencia). Existe una mayor concentración de metales (As, Pb, Cu y Zn) en el suelo extraído de Villa de la Paz (sitio contaminado) que en el suelo de Matehuala (sitio de referencia) (Figura 4) (González-Mille, datos no publicados).

Tabla 1.- Concentraciones (mg/kg) de metales Pb, As, Cu y Zn en suelo de Villa de la Paz (sitio contaminado) y Matehuala (sitio de referencia).

Zona	Metal	n	Media \pm D. E.	Min - Max
Villa de la Paz	Pb	15	1228.2 \pm 271.4	528.0 - 1704.0
	As	15	7902.6 \pm 4259.8	813.5 - 16450.0
	Cu	15	703.7 \pm 226.3	297.5 - 1047.5
	Zn	15	3513.5 \pm 1501.1	617.5 - 6025.0
Matehuala	Pb	15	23.5 \pm 4.5	16.0 - 30.4
	As	15	23 \pm 4.9	19.1 - 37.5
	Cu	15	25.6 \pm 1.6	23.8 - 28.8
	Zn	15	87.3 \pm 43.9	58.8 - 192.5

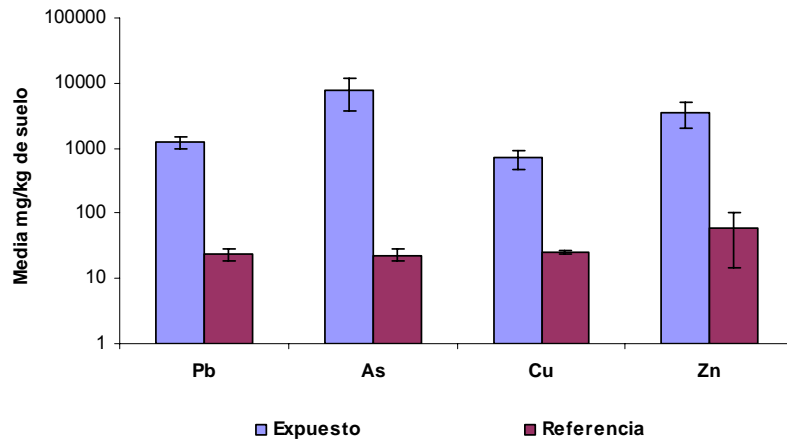


Figura 4.- Concentración de metales Pb, As, Cu y Zn en suelo (mg/kg) de Villa de la Paz (sitio contaminado) y Matehuala (sitio de referencia).

Modelación probabilística de la exposición oral a As por suelo para *Dipodomys merriami*.

Se realizó la estimación probabilística de la exposición oral a As derivado de las actividades del *Dipodomys merriami* en el suelo impactado. Se utilizaron parámetros descritos en estudios previos referentes a las concentraciones ambientales en el área, datos referentes a la bioaccesibilidad de los metales y los factores de exposición de la especie en cuestión, descritos en literatura científica e informes de la Agencia de protección ambiental de estados Unidos (Reynolds, 1958; EPA, 1993).

La Tabla 2 muestra los parámetros utilizados para realizar la estimación probabilística de la exposición oral del *Dipodomys merriami* al As proveniente del suelo, los parámetros se tomaron de datos reportados por estudios previos (Reynolds, 1958; EPA 1993).

Tabla 2.- Parámetros utilizados en la estimación de la Dosis de Exposición de As por Suelo en Área Contaminada para la especie *Dipodomys merriami*.

Parámetro	Distribución	Referencia	Media	DE
Concentración As en Suelo en área Referencia mg/ kg	Log-Normal: Análisis	Muestreo	23.00	4.9
Concentración As en Suelo en área Contaminada mg/ kg	Log-Normal: Análisis	Muestreo	7902.60	4259.8
Bioaccesibilidad Intestinal	Log-Normal: Análisis	Muestreo	0.154	0.180
Bioaccesibilidad Gástrica	Log-Normal: Análisis	Muestreo	0.20	0.23
Ingesta de alimentos (kg/ día)	12% del peso corporal	Reynolds, 1958;	5.052×10^{-3}	
Proporción de Suelo en el alimento Tasa de Ingesta kg/ día	2% de la ingesta del suelo	EPA 1993	1.010×10^{-5}	
Peso corporal kg	Log-Normal: Análisis	Muestreo	0.0421	0.0069

La Tabla 3 muestra los resultados de la estimación de la exposición de As en las áreas Control y Contaminada de la Zona Villa de la Paz- Matehuala. Según los resultados descritos, se observa que las dosis de exposición al Arsénico son superiores para los roedores habitantes del sitio contaminado en comparación con los valores estimados para aquellos que habitan en el sitio de referencia. Este comportamiento no se altera cuando se toma en cuenta los diferentes valores de bioaccesibilidad gástrica e intestinal para el *Dipodomys merriami*; mas adelante en el presente estudio se explica por qué ésta parte se dirigió sólo a estimar la exposición al As.

Tabla 3.- Estimación de la Dosis de exposición a As por suelo en *Dipodomys merriami*.

Sitio	Dosis de Exposición a As de <i>Dipodomys Merriami</i> mg/ kg-día	
	Bioaccesibilidad Gástrica	Bioaccesibilidad Intestinal
Contaminado	$5.4 \times 10^{-3} - 8.78 \times 10^{-1}$	$3.6 \times 10^{-3} - 6.38 \times 10^{-1}$
Referencia	$2.3 \times 10^{-5} - 2.4 \times 10^{-3}$	$6.2 \times 10^{-4} - 9.6 \times 10^{-4}$

Cuantificación de metales en hígado y riñón

Para verificar los resultados obtenidos en la estimación de la exposición se evaluó la concentración de Cd, Pb y As en hígado y riñón de los roedores capturados tanto en el sitio impactado como en el sitio de referencia. La Figura 4 falta indica que los roedores cuyo hábitat se sitúa en el área contaminada, presentan mayor exposición a los metales en comparación con aquellos que habitan los sitios de referencia; en consecuencia podemos afirmar que la exposición en los roedores depende principalmente de la concentración de metales en el suelo donde habitan.

Los resultados indican que hay diferencia significativa entre la concentración de metales Cd, Pb y As en hígado y riñón, en los roedores de Villa de la Paz comparado con los roedores de Matehuala (Tabla 4).

Tabla 4.- Concentraciones (ug/gr tej. húmedo) de metales Cd, Pb y As en hígado y riñón de roedores de la familia Heteromyidae.

Sitio	Órgano		n	Media ± D. E.	Min. ± Max
Referencia	Hígado	Cd	11	0.074 ± 0.043	0.018 ± 0.147
		Pb	11	0.099 ± 0.124	0.001 ± 0.431
		As	11	0.089 ± 0.060	0.008 ± 0.192
	Riñón	Cd	11	0.699 ± 0.459	0.11 2 ± 1.379
		Pb	11	0.278 ± 0.204	0.058 ± 0.779
		As	11	0.196 ± 0.174	0.050 ± 0.552
Contaminado	Hígado	Cd	10	0.918 ± 0.431	0.235 ± 1.488
		Pb	10	0.280 ± 0.222	0.033 ± 0.835
		As	10	1.537 ± 0.914	0.579 ± 3.142
	Riñón	Cd	10	2.472 ± 0.926	0.597 ± 3.459
		Pb	10	1.083 ± 0.560	0.095 ± 2.324
		As	10	2.005 ± 1.038	0.908 ± 4.195

Ensayo cometa

Según los antecedentes (ATSDR, 1999) uno de los efectos adversos derivados de la exposición al As es el daño genotóxico en humanos. El presente estudio se enfocó a la evaluación del daño al ADN por medio del ensayo cometa. Estrategias similares han sido utilizadas por Ieradi *et al.*, (2003) para medir el mismo efecto derivado de la exposición a otros contaminantes en roedores. Como se esperaba, el daño genético resultó dependiente de la exposición a metales

Los resultados obtenidos mediante el ensayo cometa muestran que el daño genotóxico en los roedores de Villa de la Paz es estadísticamente mayor ($p < 0.001$) que el de los roedores capturados en el sitio de referencia (Figura 5). Lo anterior concuerda con lo que mencionan da Silva *et al.*, (2000) ya que los roedores capturados en la región de la mina de carbón, presentaron estadísticamente mayor daño genotóxico comparado con los roedores capturados en el sitio de referencia.

El estrés ocasionado en los roedores por la captura, manejo y traslado fue similar para todos los individuos. Así que le podemos atribuir a los metales el daño genotóxico y dejar de lado el efecto adverso ocasionado por el estrés al manipular a los animales.

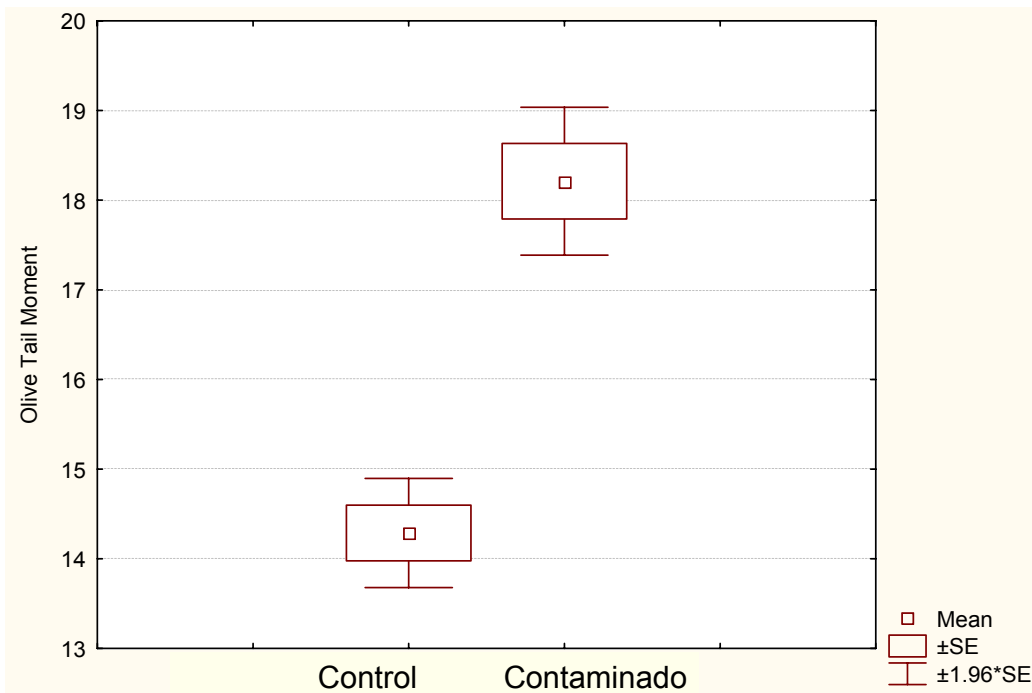


Figura 5.- Comparación medias del olive tail moment (\pm SD) entre roedores capturados en el sitio control y sitio contaminado. (t- test variables independientes; $p < 0.001$).

PROCESO DE INTEGRACIÓN DEL RIESGO

Históricamente, las metodologías de evaluación de riesgo para salud humana y para los componentes ambientales (riesgo ecológico) se han desarrollado como metodologías independientes; el presente estudio utiliza una metodología integrada de evaluación de riesgo enfocada a situaciones reales ocurridas en un sitio contaminado tales como: múltiples medios, múltiples rutas y la exposición de diversas especies –humanos entre ellos- a los contaminantes presentes en un sitio.

Existen dos razones fundamentales para realizar una evaluación integrada del riesgo, que son: 1) Mejorar la calidad y la eficiencia del proceso de evaluación por medio del intercambio de información entre la salud humana y los estudios ambientales; y 2) proveer de mejores argumentos para el proceso de toma de

decisiones. Con respecto a esto último, los evaluadores de riesgo humano y ecológico, frecuentemente generaban evidencias que resultaban en impresiones contradictorias de la naturaleza de los riesgos, lo que dificultaba el proceso de la toma de decisiones. La utilización de resultados opuestos generados derivados de metodologías de evaluación distintas puede ser un problema superado cuando se trabaja en una metodología integrada.

Aunque el sitio está impactado por diversos metales, el estudio se enfocó sólo al As y a su conocido su efecto genotóxico, por lo que éste se valoró a través del ensayo cometa. Para la salud humana, se estudió el biomarcador de daño al ADN tanto en niños habitantes de la zona contaminada, como en niños de una zona rural sin antecedentes de minería; por otra parte, estudiamos el mismo efecto en ADN de ratones capturados en dos áreas específicas, una de alta concentración de As y otra de baja concentración.

El proceso de integración que aquí realizamos buscó el cálculo de la dosis de exposición al As proveniente del suelo de Villa de la Paz tanto para los niños, como para los roedores, de acuerdo a los antecedentes descritos por Razo y col 2004, el suelo resultara ser la principal ruta de exposición para ambos grupos; para los ratones resulta evidente que la todas sus actividades las realizan en contacto estrecho con este medio, mientras que para los niños, por sus características, son aquellos individuos que mas tiempo pasan en contacto con el suelo.

Se realizó la estimación probabilística de la exposición oral a As en niños la ecuación básica que se utilizó en ambos casos es la siguiente (OPS 1999):

$$\text{Dosis (mg / kg - día)} = \frac{\text{Conc} \times \text{TI}}{\text{PC}}$$

Para los roedores *Dipodomys merriam*: se utilizaron parámetros descritos en estudios previos referentes a las concentraciones ambientales en el área, datos referentes a la bioaccesibilidad de los metales y los factores de exposición tanto de humanos como para roedores los parámetros que se utilizaron están bien

descritos en la Tabla 2 . La Figura 6 muestra la asociación entre la estimación de la exposición en niños de Villa de la Paz, así como la estimación de la dosis de As en el *Dipodomys merriami* y el daño al ADN medido por medio por el Ensayo Cometa.

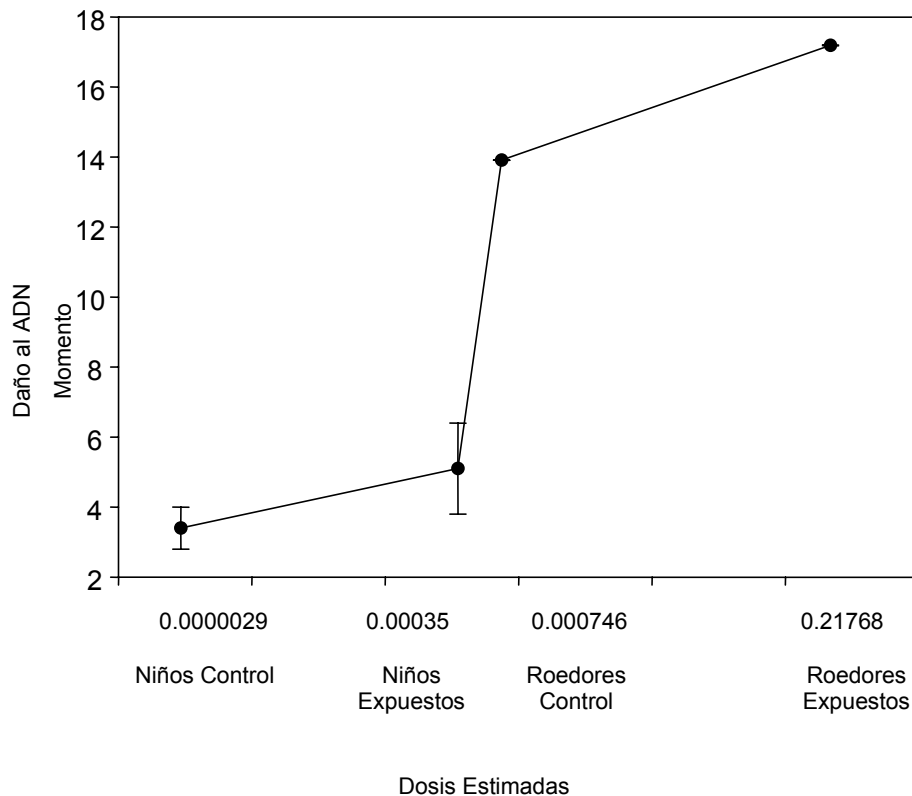


Figura 6. Estimación de las Dosis de Exposición a As por suelo y Daño al ADN en Niños de Villa de la Paz, Niños de Soledad de Graciano Sánchez, Roedores Capturados en la Zona Contaminada y Control.

La conjunción de los resultados demuestra que tanto niños como ratones habitantes de la zona minera se encuentran expuestos a los metales pesados; además, en ambos el daño al ADN es mayor en poblaciones controles que en las poblaciones no expuestas.

Uno de los resultados más relevantes que encontramos es que los roedores en este escenario resultarían ser los organismos más sensibles que los seres humanos al efecto genotóxico derivado de la exposición a As. Los cometas observados en los *Dipodomys merriami* capturados en la zona contaminada son hasta casi 10 veces mayores que aquellos encontrados en los niños expuestos, aún cuando las máximas dosis estimadas son similares; por otro lado, a pesar de

Eliminado: é

que las dosis de exposición estimadas en los ratones del área de referencia son menores a las dosis de los niños expuestos, el valor máximo del daño al ADN supera por casi 8 veces el daño registrado en los niños de este grupo.

Los resultados que se presentan tienen un incertidumbre asociada, derivada de la estimación de la exposición, lo ideal para reducir dicha imprecisión es valorar directamente la exposición al metal; sin embargo, con todo lo anterior, es evidente, que los seres vivos se encuentran en riesgo en el sitio estudiado por lo que, el programa de restauración debe considerar proteger, no solamente a la población humana sino también, a los organismos de la biota.

RECOMENDACIONES

Con todo lo anterior resulta evidente el impacto en los receptores ecológicos estudiados (*Chaetodipus nelsoni* y *Dipodomys merriami*), en Villa de la Paz derivado de las altas concentraciones de los metales en suelo y polvo. Con los datos obtenidos hasta el momento se puede afirmar que existe un potencial riesgo ecológico; sin embargo, si se desea realizar la caracterización de los efectos en niveles de organización superiores es necesario la implementación de evaluaciones ecológicas en el sitio, lo que implica estudios con mayor profundidad y por consecuencia durante periodos de tiempo mayores (1 año mínimo).

Derivado de lo anterior, se sugiere un estudio completo que deberá responder a las siguientes preguntas: ¿Cómo se refleja este efecto (daño genotóxico) en las poblaciones y comunidades de roedores en la región?: ¿Se presentan efectos reproductivos, de longevidad, malformaciones?: ¿Hay pérdida de diversidad? Para esclarecer estas cuestiones se recomienda estudiar la dinámica poblacional en el sitio de referencia y contaminado de las dos especies de roedores afines a ambos sitios de muestreo (*Chaetodipus nelsoni* y *Dipodomys merriami*), con la finalidad de poder analizar a un nivel de organización biológica superior, como están siendo afectadas las poblaciones de las especies mencionadas anteriormente. A la par del estudio poblacional, es posible realizar un análisis de la comunidad de roedores, por ejemplo, qué efectos hay en cuanto a diversidad y

cuál es la similitud de estas comunidades de roedores, comparadas con otras comunidades del Altiplano Potosino-Zacatecano.

Lo anterior proporcionaría más elementos para poder definir en que medida se han afectado las poblaciones de roedores de la región minera de Villa de la Paz – Matehuala, ya que se abarcarían cuatro niveles de organización biológica (celular, individual, poblacional y comunidad).

De encontrarse un efecto en niveles de organización superior (individuo, población y comunidad) se recomienda establecer algunas de las siguientes acciones ecológicas para proteger a la biota:

- Unidades para la Conservación Manejo y Aprovechamiento Sustentable de la Vida Silvestre (UMA's)
- Zonas de amortiguamiento.
- Realizar corredores biológicos.
- Reubicación de especies.
- Reintroducción de especies.
- Compensación monetaria en áreas naturales protegidas.

LITERATURA CITADA

- ATSDR. 1999. *Toxicological Profile for Arsenic*. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. US Department of Health & Human Services.
- Best, T. 1994. Mammalian species: *Chaetodipus nelsoni*. *The American Society of Mammalogist*. 484:1-6.
- Boitani, L. y T. K. Fuller. 2000. *Research techniques in animal ecology: Controversies and consequences*. University Press Columbia. USA. 442 p.
- Canadian Environmental Quality Guidelines, 2002
- Clark, D.R. Jr. 1979. Lead concentrations: Bats vs terrestrial mammals collected near a major highway. *Environmental Science and Technology*, 13:338-341
- Da Silva, J.; T.R.O. de Freitas; J.R. Marinho; G. Speit; B. Erdtmann. 2000. An alkaline single-cell gel electrophoresis (comet) assay for environmental biomonitoring with native rodents. *Genetics and Molecular Biology*, 23:241-245.
- EPA/600/R-93/187. *Wildlife Exposure Factors Handbook Volume II*. December 1993.
- Espinosa-Reyes, G. 2005. *Organización de manchones de vegetación leñosa y su relación con roedores en el sur del Desierto Chihuahuense*. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México. 87 p.
- Ieradi, L.A.; J. Zima; F. Allegra; E. Kotlánova; L. Campanella; R. Grossi; M. Cristaldi. 2003. Evaluation of genotoxic damage in wild rodents from a polluted area in the Czech Republic. *Folia Zool.*, 52:57-66
- Knopper, L.D.; P. Mineau; J.P. McNamee; R.S. Lean. 2005. Use of comet and micronucleus assays to measure genotoxicity in meadow voles (*Microtus pennsylvanicus*) living in golf course ecosystems exposed to pesticides. *Ecotoxicology*, 14:323-335
- Macnair, E.B.V.; A.A. Meharg; R.F. Shore. 2000. Arsenic contamination in wood mice (*Apodemus sylvaticus*) and bank voles (*Clethrionomys glareolus*) on abandoned mine sites in southwest Britain. *Environmental Pollution*, 110:179-187
- Mellink, E. 1984. *Mamíferos del altiplano potosino: claves provisionales para la identificación de mamíferos vivos y cráneos*. Documento de Trabajo CREZAS-CP No. 9. Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí. México. 49 p.

- OPS 1999. Metodología De Identificación Y Evaluación De Riesgos Para La Salud En Sitios Contaminados Ops/Cepis/Pub/99.34
- Razo I, Carrizales L, Castro J, Díaz-Barriga F, Monroy M. 2004. Arsenic and heavy metal pollution of soil, water and sediments in a semi-arid climate mining area in Mexico. *Water, air and soil Pollution*, 152:129-152
- Reynolds, H. 1958. The ecology of the Merriam kangaroo rat (*Dipodomys merriami* Mearns) on the grazing lands of southern Arizona. *Ecological Monographs*. 28:110-127.
- Romero-Almaráz, M.; C. Sánchez-Hernández; C. García-Estrada; R. Owen. 2000. *Mamíferos pequeños: Manual de técnicas de captura, preparación, preservación y estudio*. UNAM. México. D. F.151 p.
- Shugart, L.R. 2000. DNA damage as a biomarkers of exposure. *Ecotoxicology*, 9:329-340
- Sumbera, R.; V. Barus y F. Tenora. 2003. Heavy metals in the silvery mole-rat, *Heliophobius argenteocinereus* (Bathyergidae, Rodentia) from Malawi. *Folia Zool.*, 52:149-153
- Swiergosz-Kowalewska, R.; M. Gramatyka; W. Reczynsky. 2005. Metals distribution and interactions in tissues of shrews (*Sorex* spp.) from copper and zinc contaminated areas in Poland. *Journal of Environmental Quality*. 34:1519-1529
- Talmage, S.S. y B.T. Walton. 1991. Small mammals as monitors of environmental contaminants. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, 119:47-145
- Torres, K.C. y M.L. Johnson. 2001. Bioaccumulation of metals in plants, arthropods, and mice at a seasonal wetland. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 20:2617-2626

ANEXO

ARSENIC AND HEAVY METAL POLLUTION OF SOIL, WATER AND SEDIMENTS IN A SEMI-ARID CLIMATE MINING AREA IN MEXICO

ISRAEL RAZO¹, LETICIA CARRIZALES², JAVIER CASTRO³,
FERNANDO DÍAZ-BARRIGA² and MARCOS MONROY^{1*}

¹ Instituto de Metalurgia, U.A.S.L.P., San Luis Potosí, S.L.P., México; ² Laboratorio de Toxicología Ambiental, Facultad de Medicina, U.A.S.L.P., San Luis Potosí, S.L.P., México; ³ Centro de Investigación y Estudios de Posgrado, Facultad de Ingeniería, U.A.S.L.P., San Luis Potosí, S.L.P., México

(* author for correspondence, e-mail: monroyma@uaslp.mx, Fax: (52+444) 825 43 26)

(Received 6 May 2002; accepted 25 August 2003)

Abstract. The environmental impact of arsenic and heavy metals on a 105 km² area of the historical and recent mining site of Villa de la Paz-Matehuala, San Luis Potosí (Mexico) was evaluated. Results of soil samples reported concentrations between 19–17 384 mg kg⁻¹ As, 15–7200 mg kg⁻¹ Cu, 31–3450 mg kg⁻¹ Pb and 26–6270 mg kg⁻¹ Zn, meanwhile, the concentrations in dry stream sediment samples were found to vary between 29–28 600 mg kg⁻¹ As, 50–2160 mg kg⁻¹ Pb, 71–2190 mg kg⁻¹ Cu, and 98–5940 mg kg⁻¹ Zn. The maximum arsenic concentration in pluvial water storage ponds (265 µg L⁻¹), near the main potential sources of pollution, exceed by 5 times the Mexican drinking water quality guideline (50 µg L⁻¹). The arsenic concentrations in water storage ponds and stream sediments decrease as distance from the potential sources increase. A special case is the 'Cerrito Blanco' area located 5 km east of Matehuala, where the highest arsenic concentration in water was found (>5900 µg L⁻¹), exceeding by 100 times the established guideline, thus representing a severe health risk. The results suggest that arsenic and heavy metal dispersion from their pollution sources (historical and active tailings impoundments, waste rock dumps and historical slag piles), is mainly associated in this site with: (1) fluvial transportation of mine waste through streams that cross the area in W-E direction; and (2) aeolian transportation of mineral particles in SW-NE direction. Finally, control measures for pollution routes and remediation measures of the site are proposed.

Keywords: arsenic, environmental impact of mining, heavy metals, historical mining, semi-arid climate, tailings impoundments

1. Introduction

Mining is one of the most important sources of heavy metals in the environment. Mining-milling operations and disposal of tailings (the finely ground remains of milled ores) in addition to smelting and metal refining provide significant sources of pollution. In 1988, Nriagu and Pacyna estimated that 635 × 10⁶ kg yr⁻¹ lead and 35 × 10⁶ kg yr⁻¹ arsenic had been released into the environment (atmosphere, aquatic systems and soil) by the mining and metallurgy industry, which represented 35 and 22%, respectively, of the total Pb and As released into the environment.



In the absence of control or restoration measures, As and heavy metals contained in residues coming from mining and metallurgical operations are often dispersed by wind and/or water after their disposal. In addition, the pollution of water by dissolved As and heavy metals has been mainly associated with acid mine drainage (AMD), one of the most serious environmental hazards from the mining industry. The AMD is generated by the oxidation of sulfide-bearing minerals exposed to weathering conditions resulting in low quality effluents characterized by acidic pH and a high level of dissolved metals (e.g., As, Cd, Cu, Zn) and anions (e.g., sulphates and carbonates).

In recent years, most of the environmental impact assessments related to the mining industry have been focused on sites with AMD generation, and not enough has been done in sites where the AMD generation does not represent the main environmental problem, as in the case of mine sites exposed to semi-arid climates.

Because of the low precipitation and high evaporation rates in semi-arid climate areas, AMD generation does not often represent an immediate problem. Nevertheless, mining in dry climates can produce environmental impacts related to AMD that will not begin for a hundred years, but, once started, may continue for thousands of years (Kempton and Atkins, 2000). Opposite to delayed AMD generation, climatic effects like wind storms and heavy rainfalls have greater impact in the dispersion of metals in semi-arid areas since desert soils are typically sparsely vegetated. Wind erosion can be a major cause of the loss and dispersion of material from tailings impoundments into their surroundings and can affect tailings dams in all kinds of climates, but becomes worse as climatic aridity increases (Blight and Da Costa, 2001).

In Latin America, mining has existed during centuries and has represented one of the main economic activities. In 1999, for example, Mexico produced 131 000 tons of Pb and 1311 tons of Cd, which represented 4.3 and 6.5% respectively, of worldwide production for the year. In addition, Mexico is recognized as the fourth arsenic producer in the world (INEGI, 2000). In 1998, the Mexican production of arsenic trioxide was 3000 tons, which represented 7% of the worldwide production (Manas, 2000).

In central and northern Mexico, where a semi-arid climate predominates, there are at least eight mining districts where Ag-Pb-Zn and Au-Cu skarn sulfide ores are or were mined (Chávez *et al.*, 1999). These kind of ores are characterized not only by its base-metals content but also by the presence of arsenic as an impurity element in the ores. Arsenic occurs mainly as arsenopyrite (FeAsS) although the presence of tennantite ($\text{Cu}_{12}\text{As}_4\text{S}_{13}$) and enargite (Cu_3AsS_4) has also been reported (Megaw, 1999). These ores are also characterized by their high content of minerals with a significant neutralizing potential, such as calcite (CaCO_3), dolomite ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$) and siderite (FeCO_3).

One of these sites is the mining district of Santa Maria de la Paz, located in the Municipalities of Villa de la Paz (5120 inhabitants) and Matehuala (78 050 inhabitants) in the state of San Luis Potosí (Mexico), where a Pb-Zn-Ag (Cu-Au)

skarn ore system has been mined for more than 200 yr. At this site, two different pollution stages for As, Cu, Zn, Pb and Cd were previously reported (Castro, 1995; Castro *et al.*, 1997). These reports found a high grade pollution related to fluvial dispersion of mine waste through streams and a low grade pollution related to aeolian dispersion of tailings and particulate emissions from the old smelter. Considering these results, Díaz-Barriga (1999) and Mejía *et al.* (1999) evaluated children's exposure to As and Pb in Villa de la Paz. They found high concentrations of As in urine (28% of children with levels $>100 \mu\text{g g}^{-1}$ creatinine) and Pb in blood (31% of children with levels $>10 \mu\text{g dL}^{-1}$).

The aim of this work was to assess the environmental impact of mining on soils, sediments and surface water in the Villa de la Paz-Matehuala area and to identify the main factors involved in arsenic and heavy metals dispersion under semi-arid conditions.

2. Study Area

The Ag-Pb-Zn (Cu-Au) mining district of Santa Maria de la Paz is located approximately 500 km NNW of Mexico City (Figure 1). It occurs at the western margin of the Sierra Madre Oriental on the eastern slopes of a small mountain range known as El Fraile range (Castro *et al.*, 1997). The geographical coordinates are longitude $100^{\circ}38'W$ and latitude $23^{\circ}41'N$.

At this site a Pb-Zn-Ag (Cu-Au) skarn ore system has been mined since the eighteenth century (SEMIP, 1992). Ore deposits contained two kinds of mineralization: a Pb-Zn-Ag ore body and a Cu-Au (Zn) ore body, which are separated at the eastern fringe of the El Fraile range by a N-S trending fault (Castro *et al.*, 1997). The Pb-Zn-Ag ore body is characterized by hydrothermal veins located in the eastern part of the deposit. It presents an average grade of 7% Pb, 5% Zn and 0.05% Ag with an ore mineralogy constituted by galena (PbS), sphalerite (ZnS), arsenopyrite (FeAsS), pyrite (FeS₂) and Cu-Sb sulfosalts (Megaw, 1999). The mining of this Pb-Zn-Ag ore stopped in 1992 (SEMIP, 1992).

The Cu-Au (Zn) ore corresponds to a skarn mineralization located in the western part of the deposit, where the ore has been mined in the Dolores and Cobriza mines since 1870. The average grades of this second type of mineralization are 0.5 mg kg^{-1} Au and 0.2–1.4% Cu, with chalcopyrite (FeCuS₂), bornite (Cu₅FeS₄), sphalerite (ZnS) and pyrite (FeS₂) as main ore minerals (Megaw, 1999). The ore-dressing plant and ore stockpiles are located and operating on the east side of Villa de la Paz; meanwhile, a smelter worked until 1965 on the north side of Matehuala (Figure 1).

As a result of the intense mining activity at the site, five tailing impoundments have been installed around Villa de la Paz (most of them on the east side of the town) in addition to one abandoned slag pile located around the old smelter in Matehuala (Figure 1). At present, only one tailings dam is operating (TD3); mean-

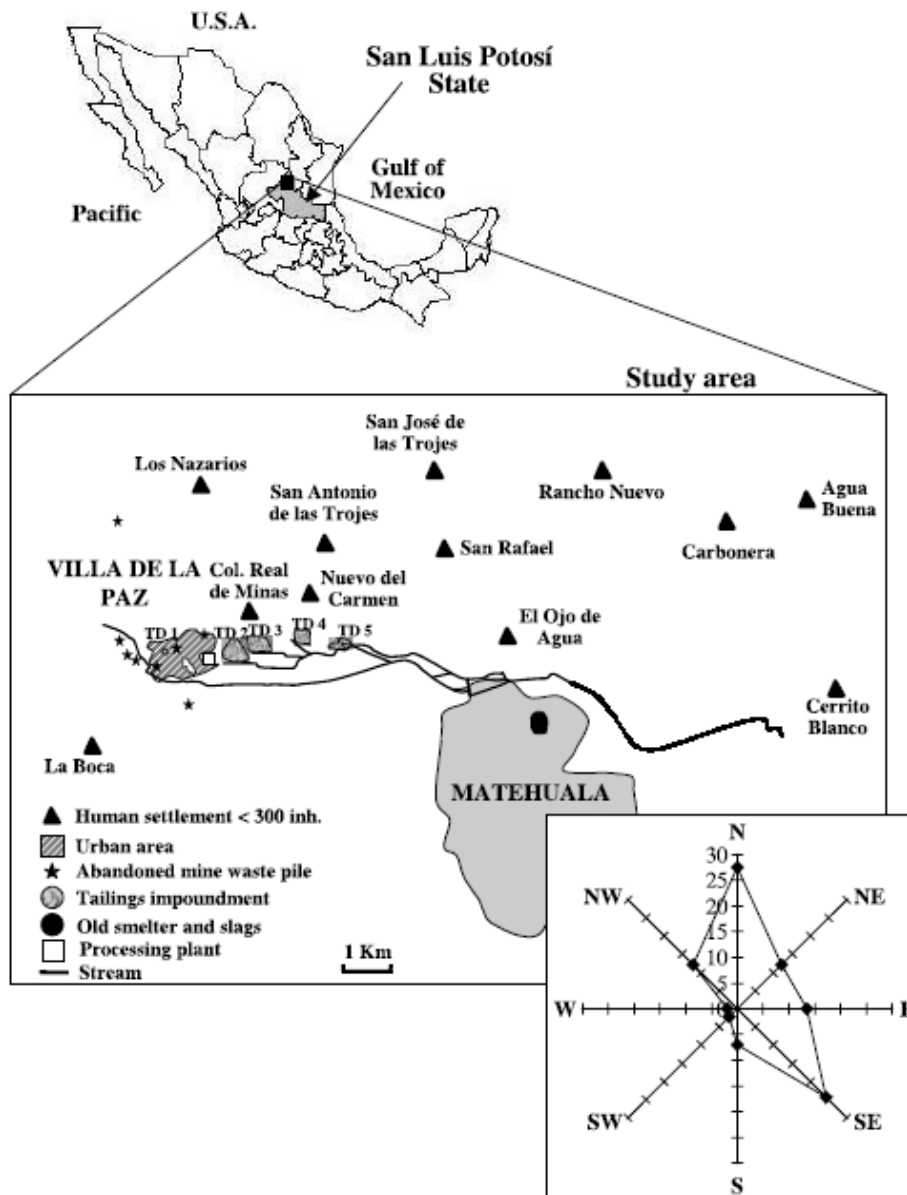


Figure 1. Geographical localization, schematic map and frequencies of prevalent wind direction in the study area (100% = 365 days)



Figure 2. Aeolian dispersion of mineral particles from TD3 tailing pond towards the human settlement called Col. Real de Minas.

while, the other four impoundments have been completely abandoned. The volume of tailings stored in the impoundments has not yet been quantified, but the biggest of them (TD2) contains approximately 8×10^6 tons of tailings with an average content of 4000 mg kg^{-1} As, which is mainly associated with the finest particles, for example, $41\,000 \text{ mg kg}^{-1}$ As in the $<63 \mu\text{m}$ fraction (Castro, 1995).

The annual average temperature at the site is 14°C . The rainy season is from June to September with an average precipitation of 300 mm. The annual precipitation average is 470 mm (according to the National Meteorological Service, Matehuala station, period 1925–1999). Since the tailings dams and waste rock dumps have no protective soil covers, and they are located in a high-energy stream area, waste material has been washed out during heavy seasonally rainfalls.

Figure 1 illustrates frequencies of prevalent wind direction in the study area according to data recorded in the Matehuala station for the period 1997–2000. No recorded data of wind intensity is available in the area. Mineral particles from tailings dams are also dispersed by strong winds during the dry season (Figure 2).

The predominant soil type in the valley is *calcic to gypsic xerosol* with gradual increment of gypsum towards the valley center (INEGI, 1979). In the Villa de la Paz area, the soil is *eutric lithosol* type associated with *rendzina* (INEGI, 1982).

The study area is located in a stream basin that originates in El Fraile range and covers the greater part of the valley. Some streams have contact with the non-

restored tailing impoundments (Figure 1). These streams are visibly impacted with material coming from the tailings impoundments.

The Villa de la Paz Municipality has as its main agglomeration the town of Villa de la Paz, which had 3600 inhabitants in 1995; meanwhile, the Matehuala Municipality is mainly represented by the city of Matehuala, which had 60 700 inhabitants in the same year.

3. Methods

3.1. SAMPLING

Soil, stream sediment, surface water and groundwater samples were collected from a 105 km² area during the dry season in April 2001. A high-density systematic sampling was undertaken within a 400 m grid in the area presumably impacted by dispersion of mineral particles through streams. Additionally, a low-density systematic sampling was done within a 2 km grid in the area presumed impacted by aeolian dispersion of particles and by smelter emissions. Two hundred thirty three soil samples were collected in the high density sampling and 39 soil samples in the low density sampling from this area. Ten background level soil samples were collected in the NE-E margin of the area. Sampling points included urban areas, school playgrounds and agricultural land. Soil samples were collected with a stainless steel scoop within the first 5 cm of depth on a surface area of approximately 1 m² and stored in polyethylene bags.

Sediment samples were collected from 4 dry stream systems presumably impacted by tailings and waste rocks surrounding Villa de la Paz. Sediments were also sampled in most of the water sampling points. All sediment samples were collected with a stainless steel scoop and stored in polyethylene bags.

Surface water samples were collected from small ponds or basins where pluvial water is stored. This stored water is mainly used for irrigation and cattle watering, but in some places it is also used for domestic water supply. In addition, surface and groundwater samples were collected from two hydrological systems constituted of handmade wells and channels constructed by the inhabitants on the east side of Matehuala city. These two well and channel systems have been identified in this work as Cerrito Blanco and Carbonera channel systems.

Mine water from Ag-Pb-Zn area was also sampled. It is directly used for irrigation, but it is also temporarily stored in some ponds on the east side of Villa de la Paz for the same use. All water samples were collected in 500 mL polyethylene containers previously washed with a 10% HNO₃ solution and rinsed with deionized water. Natural pH of water samples was determined *in situ* by using a portable Beckman Φ 10 pH-meter with temperature-compensated glass calomel electrode. The unfiltered water samples were then acidified adding 1–2 mL of HNO₃ concentrated and stored in ice for transport. Previous to chemical analyses, water samples

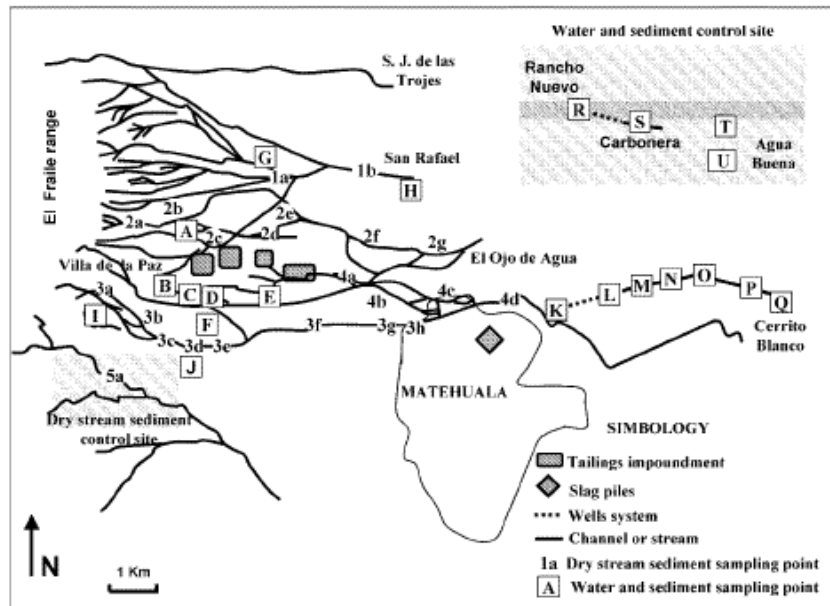


Figure 3. Water and sediment sampling points and control (background) sites localization for water and sediment.

were maintained under refrigeration. Figure 3 shows water and sediment sampling points and localization of control (background) sites.

3.2. PREPARATION OF SOIL AND SEDIMENT SAMPLES

Soil and sediment samples were dried in an oven at 30 °C for 1 to 2 days. The <600 μm fraction was separated with a 28 mesh Tyler Series sieve. This fraction was selected for chemical analysis according to the mineral size distribution of the milled ore: 90% of particles were <212 μm (AIMMPE, 1986). In order to corroborate the high association of As and heavy metals with the <600 μm fraction in soil samples, 17 samples were selected to compare the As, Cu, Pb and Zn concentration in the 2 mm fraction against the selected 600 μm fraction. Results showed a high correlation ($R^2 > 0.95$) for each analyzed element between both particle sizes.

3.3. SOIL AND SEDIMENT pH

pH measurement of soil and sediment samples was carried out according to D 4972-95a ASTM Method (ASTM, 1997), which indicates pH measurement of dry samples suspended in both, distilled water and CaCl_2 solution in a 1:1 soil to solution ratio.

A Beckman Φ 10 pH-meter with temperature-compensated glass calomel electrode was used for pH measurements.

3.4. CHEMICAL ANALYSES

Soil and sediment samples were acid digested (25% HNO_3) for 30 min under 80 psi pressure using a CEM MDS-2000 microwave extraction system. After digestion, the extracted solution was filtered through Whatman filter paper with 11 μm pore diameter. The unfiltered water samples were digested with HNO_3 under heating until completed dryness and dissolved with a 0.2% HNO_3 solution.

Chemical analyses for As, Pb, Zn and Cu were carried out in soil and sediment samples by flame atomic absorption spectrometry using a Varian Spectra AA 220 atomic absorption spectrometer; As was analyzed by flame atomic absorption spectrometry using a Perkin Elmer 2380 atomic absorption spectrometer coupled to a Perkin Elmer MHS-10 hydride generation system. Water samples were analyzed for total As only, using the same equipment.

As quality control, SRM 2704 sediment, SRM 2710 soil and SRM 1643d trace elements in water standard reference materials were obtained from the National Institute of Standards and Technology (U.S.A.). A quality control was carried out for each batch of 50 samples. The percent recovery values were better than 85% for the four elements analyzed in soil, sediment and water samples.

3.5. X-RAY DIFFRACTION ANALYSIS

In order to determine the major mineralogical components of soil and sediment samples, an X-ray diffraction (XRD) analysis was performed on 20 representative samples. This analysis was carried out with a Rigaku DMAX 2200 diffractometer using $\text{Cu-K}\alpha$ radiation. XRD analysis were carried out from 5 to 90° 2θ and a step scan of 2.4° min^{-1} .

3.6. CONTOUR MAPPING

The geographic coordinates of each soil, water and sediment sampling point were determined with a Trimble Navigator 17319-03 Global Positioning System (GPS). The Surfer 7.0 surface mapping system (Golden Software Inc., U.S.) was used to produce contour maps for metal dispersion patterns in soil. Before feeding the data to the Surfer program, the coordinates of latitude and longitude of each sampling point were transformed to Universal Transversal of Mercator (U.T.M.) units using the Coordinate Transform 3.1 program (SeisSoft Co & John Banta, U.S.). The gridding Inverse Distance to a Power method allowed us to weight the data during interpolation, such that the influence of one point relative to another declines with distance from the grid node. Assuming that As and heavy metals dispersion in the site has a preferential orientation towards N and E due to predominant wind and stream direction, an anisotropy of 1.5 was considered.

3.7. STATISTICAL ANALYSIS

A statistical analysis by Principal Component Analysis (PCA) was performed using the results of soil and sediment chemical analyses and a Statview SE + Graphics TM software (Abacus Concepts, Inc., U.S.A.). PCA is a multivariate method used mainly for data reduction. It aims at finding a few components that explain the major variation within the data. Each component is a weighted, linear combination of the original variables. Usually, only components with eigenvalues >1 are of interest. In order to make the components more interpretable, while still being orthogonal, a varimax rotation was used (Danielsson *et al.*, 1999). These methods have also been widely used in geochemical applications to associate pollution to potential sources (Aragón *et al.*, 2000; Facchinelli, 2000).

4. Results

4.1. WATER AND SEDIMENT POLLUTION

In Table I are presented arsenic concentrations in water and As, Pb, Zn and Cu concentrations in sediment samples collected from water storage ponds and mine water channels. For these samples, there was observed an inverse relationship between the concentration of metals in water and sediments and the distance from potential pollution sources. The water in storage ponds and channels presented As concentrations as high as $420 \mu\text{g L}^{-1}$, exceeding more than 20 times the background concentration (samples T and U) and 8 times the Mexican drinking water guideline ($50 \mu\text{g L}^{-1}$ As).

All water storage basins in the study area presented higher concentrations of As and heavy metals in sediments than the background concentration for water basins (sample T), but sediments in channels and ponds located closer to tailings impoundments (samples A, D and E) presented the highest concentrations of As and heavy metals. Due to the lack of Mexican environmental quality guidelines for sediment, these results were compared with the Canadian interim quality guidelines for sediment which indicates a concentration of 5.9 mg kg^{-1} As as maximum permissible level in sediment of fresh water bodies (Table I). All sediment samples collected from the water storage basins reported a higher As, Pb, Zn and Cu concentration than the Canadian interim quality guidelines for sediment.

In Table II are presented the results for Carbonera and Cerrito Blanco channels and wells systems. A special case was found in the Cerrito Blanco system (samples K, L, M, N, O, P and Q) where the As concentration in water ($>5900 \mu\text{g L}^{-1}$ As at $\text{pH} = 7.1\text{--}8.4$) exceeds more than 100 times the Mexican guideline ($50 \mu\text{g L}^{-1}$ As) and more than 500 times the background concentration (samples R and S from the Carbonera system). The water from neither channel systems is not used as drinking water supply, but it is used for irrigation and cattle watering.

TABLE I

Concentrations of As and pH in water samples and concentrations of As and heavy metals in sediment samples collected in water storage ponds and mine water channel

Sample	Description	Water		Sediment			
		pH	As ($\mu\text{g L}^{-1}$)	As ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Pb (mg kg^{-1})	Zn (mg kg^{-1})	Cu (mg kg^{-1})
A	Water storage pond	9.4	236	1505	993	2688	963
B	Mine water channel	7.9	420		Not sampled		
C	Mine water channel	8.0	286		Not sampled		
D	Mine water channel	8.0	406	5917	3240	9780	1218
E	Water storage pond	7.8	108	1928	432	1155	2280
F	Water storage pond	9.4	237	431	504	1269	288
G	Water storage pond	9.3	265	169	57	239	158
H	Water storage pond	9.6	59	103	75	162	264
I	Water storage pond	8.6	262	1227	426	843	1530
J	Water storage pond	9.5	199	745	507	1086	1569
T ^a	Water storage pond	10.0	21	7	29	106	31
U ^a	Water storage pond	8.7	8		Not sampled		
	Guidelines	6.5–8.5 ^b	50 ^b	5.9 ^c	35 ^c	123 ^c	35.7 ^c

^a Control sample.

^b Mexican Water Quality Guideline.

^c Interim Sediment Quality Guideline (Canadian Environmental Quality Guidelines).

Table III shows As, Pb, Zn and Cu concentration in sediments from dry streams. Four stream systems were selected to assess the dispersion of pollutants by this route. In most of the selected streams, an inverse relationship between distance and concentration of each analyzed element was observed. Special attention must be given to stream 4, where the highest As and heavy metal concentrations were found. These samples were collected from a dry stream called 'La Paz', which is directly impacted by TD2, TD3, TD4 and TD5 tailings dams. It was clearly observed at the site that mine waste particles have been transported during heavy rainfalls for more than 10 km from the tailings dams. Figure 3 shows the localization for each analysis reported in Tables I to III.

4.2. SOIL POLLUTION

The geographical coordinates of each soil sampling point and its corresponding As, Pb, Zn and Cu concentrations were used to determine the spatial dispersion in contour maps of each element, according to both wide and narrow sampling. Figures 4 and 5 shows the contour maps for these elements obtained with the narrow

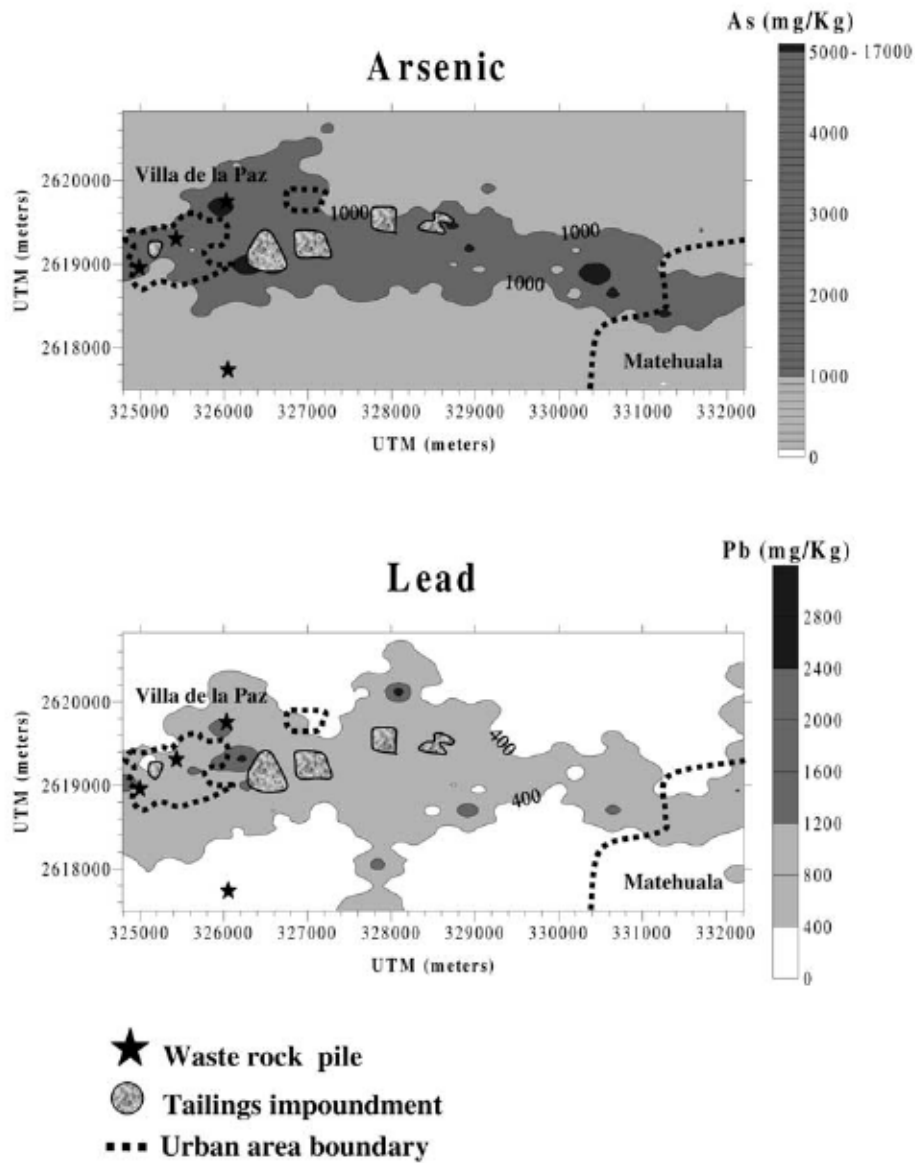


Figure 4. Contour maps corresponding to spatial distribution for arsenic and lead, according to high-density sampling (narrow sampling). Mapping by Surfer 7.0 software using distance inverse to a power interpolation method.

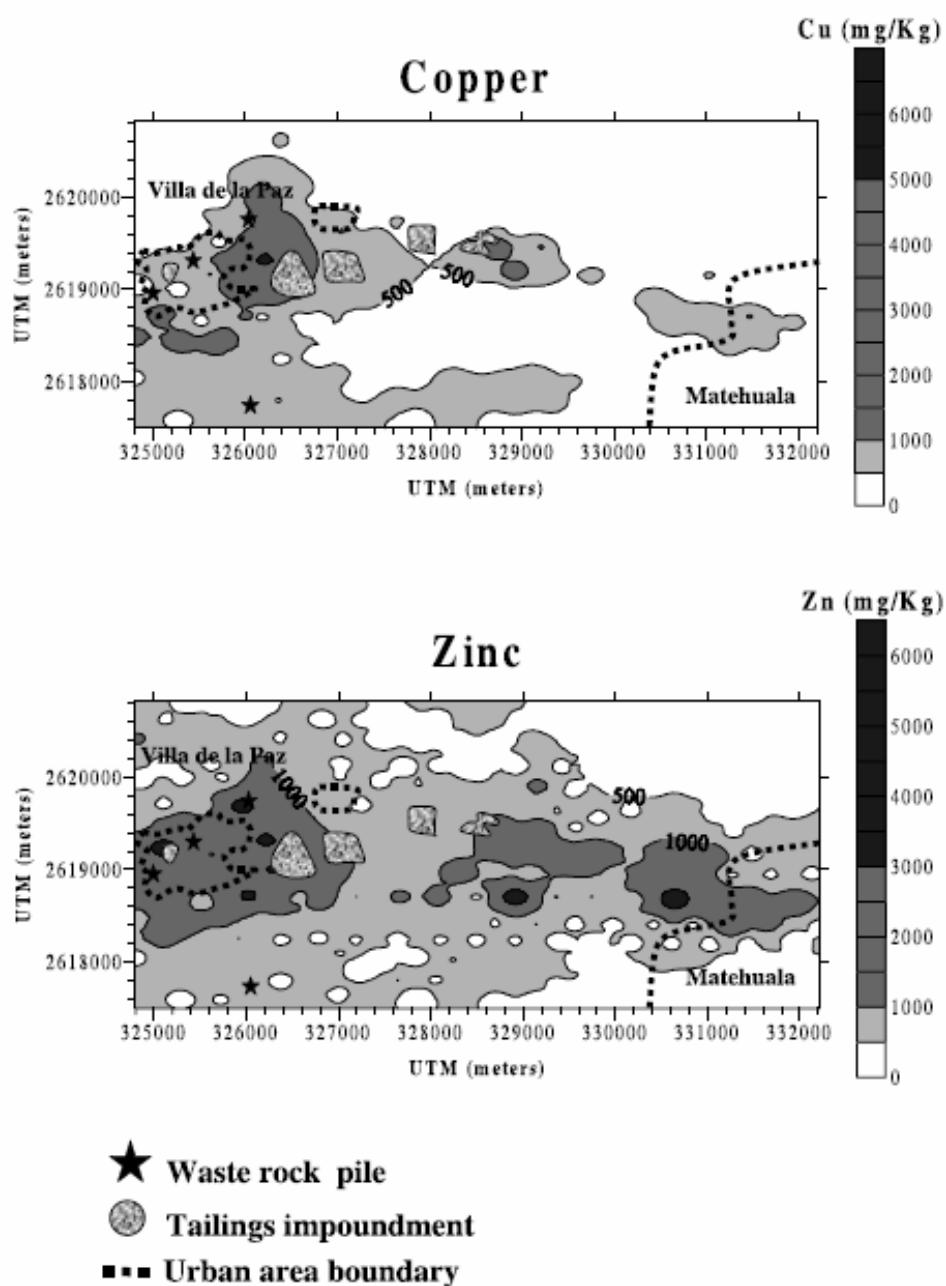


Figure 5. Contour maps corresponding to spatial distribution for copper and zinc, according to high-density sampling (narrow sampling). Mapping by Surfer 7.0 software using distance inverse to a power interpolation method.

TABLE II

Concentrations of As and pH in water samples and concentrations of As and heavy metals in sediment samples collected in wells and channel systems

Sample	Description	Water		Sediment			
		pH	As ($\mu\text{g L}^{-1}$)	As ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Pb (mg kg^{-1})	Zn (mg kg^{-1})	Cu (mg kg^{-1})
K	Well system	7.1	6176		Not sampled		
L	Well system	7.4	6765		Not sampled		
M	Channel	7.7	7165	819	115	139	58
N	Channel	7.7	6482	1432	183	142	56
O	Channel	8.2	6318	410	351	142	65
P	Channel	8.4	6106	1289	654	396	195
Q	Water storage pound	8.2	5894	955	112	125	51
R ^a	Well system	7.8	16		Not sampled		
S ^a	Channel	7.7	13	7	74	20	15
	Guidelines	6.5–8.5 ^b	50 ^b	5.9 ^c	35 ^c	123 ^c	35.7 ^c

^a Background sample.

^b Mexican Water Quality Guideline.

^c Interim Sediment Quality Guideline (Canadian Environmental Quality Guidelines).

sampling, where it can be clearly observed that pollutants are widely dispersed in the site. The tendency of the soil pollution agrees with both the flow direction of the streams (W to E direction) and the predominant wind direction in the area.

Table IV shows statistical data for As and Pb concentrations in soils in both urban and rural areas. Eighty-four percent of soil samples in both urban and rural areas, presented an As concentration higher than 100 mg kg^{-1} which has been used by the U.S. EPA as trigger level for remediation (U.S. EPA, 1990). In the case of Pb, results were compared with the U.S. EPA guidelines: 400 mg kg^{-1} Pb concentration as level for bare soil remediation in children's play areas, and a 1200 mg kg^{-1} Pb concentration as level for bare soil remediation in the rest of the yard, including industrial, agricultural and urban soil. In the study site, 10% of soil samples in urban areas and 2% in rural areas have a Pb concentration higher than the 1200 mg kg^{-1} Pb U.S. EPA guideline (USEPA, 2001). However, a more significant difference can be observed for the 400 mg kg^{-1} Pb guideline: 19% of soil samples in rural area and 38% of soil samples in urban area have a Pb concentration higher than the guideline (Table IV). These As and Pb guideline levels have been selected here as reference, due again to the lack of a Mexican official guideline for soils.

According to the results obtained in the measurement of pH for each soil sample, the soils can be classified as neutral to slightly alkaline (6.4–8.5 in distilled water

TABLE III
Arsenic and metals concentrations in sediment samples collected in dry streams

Stream	Sample	Sediment			
		As	Pb	Zn	Cu
(mg kg ⁻¹)					
1	a	373	134	264	1032
	b	250	72	189	132
2	a	2206	204	2550	2268
	b	1920	930	3630	1817
	c	701	321	966	582
	d	505	300	106	233
	e	337	282	303	825
	f	113	99	297	330
	g	105	153	225	292
3	a	5588	1860	2190	3843
	b	752	291	1029	603
	c	601	750	1287	948
	d	564	333	1182	738
	e	628	414	1005	1119
	f	337	222	600	420
	g	263	186	360	249
	h	107	86	225	185
4	a	15489	2070	1314	1923
	b	28599	2010	978	5940
	c	25331	2160	2031	1461
	d	2860	1230	804	1158
5 ^a	a	21	83	64	225

^a Background stream.

and 6.5–8.3 in 0.1 M CaCl₂). These values of pH can be directly related to the type of soil in the site: *lithosol* and *xerosol*, which are characterized by high calcite contents. The main components found by X-ray Diffraction analyses carried out in soil samples were calcite (CaCO₃), quartz (SiO₂) and gypsum (CaSO₄·2H₂O), in the same order of abundance.

TABLE IV

Descriptive statistics for As and Pb concentrations in urban and rural soils and percentage of samples exceeding the U.S. EPA guidelines for Pb and trigger level for As for soil remediation

Element	N	Min.	Max.	Mean	Percent > 100 mg kg ⁻¹ As	Percent > 400 mg kg ⁻¹ Pb	Percent > 1200 mg kg ⁻¹ Pb
—— (mg kg ⁻¹) ——							
Urban area							
As	61	8	11930	1458	84		
Pb	61	27	2970	489		38	10
Rural area							
As	221	7	17384	569	84		
Pb	221	30	3450	312		19	2

TABLE V

Correlation matrixes for As and heavy metals concentration in sediment and soil samples

	As	Cu	Pb	Zn
Correlation Matrix Sediment				
As	1.000			
Cu	0.316	1.000		
Pb	0.726	0.475	1.000	
Zn	0.509	0.420	0.851	1.000
Correlation Matrix Soil				
As	1.000			
Cu	0.421	1.000		
Pb	0.498	0.515	1.000	
Zn	0.694	0.523	0.655	1.000

TABLE VI

Eigenvalues and explained variance percent distribution obtained by PCA statistical analysis using the As and heavy metals concentrations in sediment and soil samples

	Before rotation			Variance after rotation %
	Magnitude	Variance %	Cumulative %	
Sediment				
Value 1	3.293	65.9	65.9	70.5
Value 2	0.730	14.6	80.5	29.5
Soil				
Value 1	3.064	61.3	61.3	77.6
Value 2	0.884	17.7	79.0	22.4

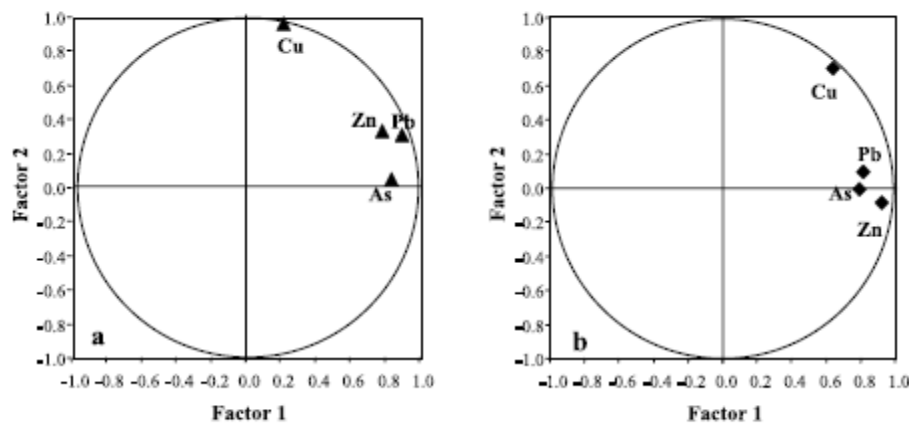


Figure 6. Graphs for Factors 1 and 2 of (a) sediment and (b) soil after orthogonal rotation VARIMAX.

4.3. PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS

The correlation matrix for Pb, As, Cu and Zn analyses in sediment and soil samples is shown in Table V. Even when correlation coefficients are not significant, some interesting associations of As-Pb and Pb-Zn in sediment and As-Zn and Pb-Zn in soil can be observed.

Table VI shows the variance magnitude and percentage of eigenvalues attributed to each factor before and after varimax rotation obtained by PCA statistical analysis using As, Pb, Cu and Zn concentrations in soil and sediment samples. Taken into account were the first two factors for both, soil and sediment, considering a percent of variance equal to 80.5% for sediment and 79.0% for soil before rotation. After

varimax orthogonal rotation, the variance contribution for the first two factors was increased to 100% for both sediment and soil (Table VI). The coordinates corresponding to the variables in these two factors were obtained and their graphical representations after rotation are shown in Figure 6. In both cases, it is clearly shown that there is a statistical association among As, Pb and Zn; meanwhile, Cu is independent and did not correlate with any element considered in this analysis.

5. Discussion

The environmental impact in mining sites includes a certain number of variables that cause each site to be very particular. Of these variables, those of greater relevance are: (1) the ore and waste mineralogy; (2) the waste management during the mine operation and after decommissioning; and (3) the climatic conditions of the site. The site here studied is particularly interesting for: (i) the high concentration of As in the ore and in the mine residues; (ii) the lack of pollution control during historical and recent mining operations; and (iii) the semi-arid conditions which the mine wastes are exposed to.

The results here described show an environmental impact on the site, with different levels of pollution in water, soil and sediment. In the case of water, As was the only analyzed contaminant (Tables I and II); Pb, Cu and Zn were also considered for soil and sediments (Tables III and IV, Figures 4 and 5). The levels of As concentration found in water samples suggest the necessity of further analyses of other pollutant elements (as Pb, Zn, Cd and Cu) in solution.

The background levels of As found in superficial and groundwater in the study site range from 8 to 21 $\mu\text{g L}^{-1}$. These concentrations are slightly higher than the natural concentration range of 1–10 $\mu\text{g L}^{-1}$ As cited for uncontaminated waters (Williams, 2001). Nevertheless, since the reported concentrations correspond to the analyses of unfiltered water samples, the concentrations of total As must correspond as much in dissolved species as in colloidal particles. Outside of background samples, most of the water samples analyzed in this study reported As concentrations ranging from 59 to more than 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ in mine water and water storage ponds. Furthermore, As concentrations exceeding 5900 $\mu\text{g L}^{-1}$ in water from the Cerrito Blanco channel system were found (Table II). These concentrations agree with levels of water pollution previously reported (Díaz-Barriga, 1999).

Within the worldwide context, the presence of such high concentrations of As in surface and groundwater in mining sites are frequently related to AMD generation (Williams, 2001). The dissolved arsenic levels found in the Cerrito Blanco channel system could then be considered as anomalous, since a clear evidence of AMD generation does not exist. Even though the sulfide minerals in most of the mining waste deposits (including tailings and waste rocks) show evidence of surface oxidation, it is not possible to confirm that AMD has been generated in the site since pH in surface water, groundwater, mine water and soils varies between 7 and 10.

The oxidation of sulfide minerals (mainly arsenopyrite) contained in the mining wastes could be one of the As pollution sources in water for this site, but the high neutralizing capacity of wastes, soils and rocks surely masks any AMD generation. Furthermore, it is well known that dissolved As species are stable over a broad pH range from 1 to 12, which confirms that pH is not a determinant parameter for As mobility (Williams, 2001; Smedley and Kinniburgh, 2002).

Because this, it is not possible even to speculate that the As pollution of water is associated to the sulfide oxidation and therefore to the AMD generation by mining wastes weathering. A complementary study focused on the evaluation of the AMD generation in the site must therefore be initiated, taking into account the analyses of other variables in water (dissolved cations and anions), mine wastes (ABA static and kinetic prediction tests) and soils (oxidation and neutralization reactions and mobility of metals under unsaturated soils).

In addition to arsenic release by oxidation of sulfide minerals contained in mining wastes, other potential mechanisms and As sources could be implied in the groundwater pollution of the site. Mechanisms for As release in water by dissolution of arsenic-bearing sulfides without evidences of AMD generation have been reported elsewhere (Yong, 1999; Nikson *et al.*, 2000; Taschereau and Fytas, 2000; Williams, 2001). These mechanisms include arsenopyrite oxidation and subsequent release of As under alkaline conditions (Sanchez and Hiskey, 1991) and natural As release in groundwater by dissolution of sulfides present in bedrock aquifers under high alkalinity and anaerobic conditions (Kim *et al.*, 2000).

In Mexico, a certain similarity of the Villa de la Paz-Matehuala mining site with the Zimapan mining district could be established, where AMD generation is evident and concentrations of As exceeding $300 \mu\text{g L}^{-1}$ have also been reported in groundwater (Armienta *et al.*, 2001). At Zimapan, three major As sources have been proposed for the groundwater pollution: (1) leaching of As-bearing minerals contained in mine tailings; (2) dissolution of As-rich particles from smelter residues; and (3) natural dissolution of As-bearing minerals present in the aquifer matrix. Oxygen isotopic studies initially suggested that the main source of arsenic in Zimapan was the leaching of sulfide minerals from old tailing piles scattered throughout the town (Buchanan *et al.*, 1997). However, a hydrogeochemical study carried out in the groundwater allowed to conclude that the highest As concentrations are mainly related to the natural dissolution of As in the aquifer matrix near mineralized zones (Armienta *et al.*, 2001; Ongley *et al.*, 2001). Although the ore and regional lithology in Zimapan are similar to those in Villa de la Paz-Matehuala (Ag-Pb-Zn Skarn), it remains to be demonstrated whether or not the source of As in the groundwater and mechanisms involved in As release for our study case are similar to those identified in Zimapan.

After the mine works stopped in September 1992 in the Ag-Pb-Zn ore zone of La Paz Mine, it was still dewatered until spring 2003. The water has been used in the ore dressing plant, but the overflows have frequently been distributed through open channels toward agricultural fields or ponds for cattle watering (A, E and F

in Figure 3). This mine water could represent an important As and heavy metal source for soil pollution in some agricultural fields and a severe health risk, due to its pollutants level (As up to $400 \mu\text{g L}^{-1}$). The arsenic pollution of soils caused by the irrigation with mine water of those areas, could be added to the natural As anomaly caused by the subsurface Pb-Zn mineralization, mainly around Villa de la Paz and the tailings impoundments (Castro *et al.*, 1997).

High As concentrations in water storage ponds outside the influence of mine water could also be related to the rainwater leaching of this element from waste rock piles located at the eastern border of the El Fraile range. These wastes show a high grade of sulfide oxidation, mainly for pyrite, chalcopyrite and pyrrhotite. This pathway could be the main source of As pollution in the water storage ponds G, H, I and J (Figure 3). Nevertheless, the consideration that the presence of As in these ponds also can be associated to the physical transport and deposit of As-bearing minerals through feed streams is not discarded. The high concentration of As found in sediment in those streams (samples 1a, b, 3a, b, c and 3d) also points in that direction. Since the water sampling campaign was carried out during the dry season (April), so a natural increase of As concentration in surface water due to evaporation should also be considered.

The high concentration of As and heavy metals in stream sediments indicate that dispersion through this manner during the rainy season is an important pollution route. The highest As concentrations in the study area were found in stream 4. These concentrations could be explained by the erosion and transport of waste particles from the tailings impoundments through the stream and the consequent settling of small size particles in flood plains. Heavy rainfalls during short rainy seasons contribute largely to the dispersion of pollutants in a very extensive area, in this way impacting not only streambeds and water bodies but also agricultural fields and urban soils.

The dispersion of As and Pb downstream from tailings impoundments has been clearly shown in contour maps corresponding to the narrow sampling (Figure 4). Following the mapping of the results of the narrow sampling, it can be observed that the dispersion of the four analyzed elements is very similar to the direction of the streams (Figures 4 and 5). It is also possible to appreciate the existence of an increase in As concentration in the Matehuala area, which can be related to the accumulation of fine material on flood plains during rainy seasons. Lead dispersion seems to be related to two pollution sources: wind and fluvial dispersion from tailings impoundments and particle emissions from the old smelter located in Matehuala city. These results are in agreement with those previously reported by Castro (1995).

It can also be observed that pollutants seem to be also dispersed by winds from tailings impoundments through both prevalent wind directions (S-N and WNW-ESE) impacting the Real de Minas area (Figures 4 and 5). To confirm the source of contaminants in soil impacted by the winds and smelter emissions, SEM-EDS

analyses of As and heavy metal particles are underway and will be published elsewhere.

Several studies related to environmental impact assessment in mining sites have reported evidence of tailings transport through streams carrying the material several kilometers downstream (Leblanc *et al.*, 2000; Lee *et al.*, 2001; Jung, 2001; Marqués *et al.*, 2001). In order to discriminate between natural and anthropogenic As and heavy metal loads in the site, a detailed study by sections in sediment and soil profiles should be carried out.

The results obtained by PCA are explained according to the mineralogy of different ores mined in the site. The statistical association between Pb, Zn and As would be related to the mineralogy of the Pb-Zn-Ag ore. Meanwhile, Cu is unassociated, because its origin is related mainly to the Cu-Au ores. These associations reported by PCA analysis confirm that the source of As, Pb, and Zn in soil and sediment is clearly related to mine wastes coming from the Pb-Zn-Ag ore.

The slightly alkaline range of soil pH found in the studied area can be associated directly to the soil type. It has been previously reported that pH of the soil plays an important role in metal mobility (Fernandez-Turiel *et al.*, 2001). Thus, metals such as Pb would present a low mobility in neutral or alkaline soils due to the formation of insoluble salts; whereas, elements like As, Cu and Zn, would present a greater mobility, due to the relative solubility of the complexes that could form in neutral or alkaline soils. Ullrich *et al.* (1999) reported that environmental mobility and potential phyto-availability of Pb, Zn and Cd are strongly governed by soil pH, which declines in the order $Cd \gg Zn > Pb$; thus, only a small portion of the Pb in the soil was found to be potentially available for plant-uptake.

Hammarstrom *et al.* (1995) reported several geo-environmental concerns related to skarn type ores. According to the results presented in this work, some of these concerns fit perfectly with the situation in the mining district of Villa de la Paz-Matehuala. Carbonate-rich host rocks consume acid, generally inhibit chemical transport of most metals, and produce high alkalinity in surface waters that flow over them. Mine waste and mill tailings are typically situated in stream flood plains. During floods or impoundment failures, influxes of fine-grained sediments can rapidly degrade downstream aquatic ecosystems, both physically and, in some cases, chemically.

Data presented here demonstrate that two different contaminated areas can be associated to different dispersion routes: (1) an area with lower level of pollution that covers an extensive area mainly in N and NE direction that could be associated to the aeolian transport from tailings impoundments located near Villa de la Paz and to old smelter emissions located in Matehuala; and (2) an area with a higher level of pollution that covers a smaller extension in E direction and that can be associated to the fluvial transport of waste material from tailings impoundments through streams. These dispersion patterns are very similar to those previously reported by Castro (1995). Both dispersion routes are considered as the main environmental impact

routes in mine sites under semi-arid conditions if control or restoration measures have not been placed.

The characterization of the dispersion routes suggests the necessity to implement as soon as possible three measures of control and remediation: (1) the control of the aeolian particle dispersion from the historical and operating tailings impoundments; (2) the control of erosion by deflection of the streams that cross the area of tailings impoundments; and (3) the restoration of areas (soil and sediment) with greater As and Pb pollution. In agreement with maximum permissible As concentration defined by EPA, works of soil restoration in little more than 60 km² of the total area here studied would have to begin immediately. In the case of Pb, the soil in Villa de la Paz would also need an immediate plan of soil remediation.

With regard to water pollution by As, two measures of control are suggested: (1) recollect and treat mine water before discharging it into water storage ponds or use it for irrigation; and (2) treat groundwater recollecting through wells and channels in the Cerrito Blanco system. For this latter case, even if treatment of water could be initiated, it is necessary to identify the source of As pollution of groundwater to evaluate the possibilities of prevention, to diminish the cost of water treatment.

6. Conclusions

The Villa de la Paz-Matehuala site shows a heavily polluted area directly related to the mining and metallurgical activities developed during the last 200 years. This study allowed characterization of the main dispersion routes involved in the environmental impact by arsenic and heavy metals in sediments and soil under semi-arid conditions. The identified dispersion routes can be related mainly to the geomorphologic and climatic characteristics of the site, as well as to the ore and mine waste mineralogy, but also to a consequence of the lack of control and remediation measures during and after mining operations. Statistical relationship of As, Pb, Cu and Zn in soil and sediment obtained by PCA, confirm that the source of these elements can be related directly to mining activities in the area. Thus, under the climatic conditions of the site the dispersion of the contaminants in sediment and soil seems to respond in a greater degree to a physical dispersion of mineral particles from tailings impoundments than a chemical mobility of pollutants.

However, the case of the Cerrito Blanco channel system, where an As concentration in water exceeding 5900 $\mu\text{g L}^{-1}$ was found, suggests that chemical processes of As dissolution and mobility could be involved in the pollution of the groundwater in the site. A specialized study must be carried out in order to determine the pollution source.

Due to the high As concentration found in water, soil and sediment, in addition to Pb concentration in soil and sediment, a serious ecological and health risk in this

site must be considered. Pollution control actions and restoration of contaminated areas must be implemented at once.

Acknowledgements

We are grateful to the CONACyT (National Council for Science and Technology Grant 158147), FAI-UASLP (Grant FAI C01-FAI-10-5.64) and COPOCyT for the fellowship for Israel Razo. The authors gratefully acknowledge Miss Izanami López for her assistance in the chemical analyses.

References

- American Institute of Mining Metallurgical and Petroleum Engineers (AIMMPE): 1986, *Minas Mexicanas*, Tomo 2, Society of Economic Geologist, Mexico, pp. 142.
- American Society of Testing and Material (ASTM): 1997, *Standards on Environmental Sampling*, American Society for Testing Materials, Baltimore, MD, U.S., pp. 1009.
- Aragón, P. A., Torres, V. G., Monroy, F. M., Luszczewski, K. A. and Leyva, R. R.: 2000, 'Scanning electron microscope and statistical analysis of suspended heavy metal particles in San Luis Potosí, Mexico', *Atmos. Environ.* **34**, 4103–4112.
- Armienta, M. A., Villaseñor, G., Rodríguez, R., Ongley, L. K. and Mango, H.: 2001, 'The role of arsenic-bearing rocks in groundwater pollution at Zimapán Valley, México', *Environ. Geol.* **40**, 571–581.
- Blight, G. E. and Da Costa, F. A.: 2001, 'On the Mechanics of Wind Erosion from Tailings Dams', in *Tailings and Mine Waste '01*, Balkema, Rotterdam, pp. 189–196.
- Buchanan, N., Mango, H., Lini, A. and Abbott, M.: 1997, 'Using Oxygen Isotopes to Constrain the Sources of Arsenic Contaminated Ground Water in Zimapán, Mexico', *Study Report*, Department of Geology, Bates College, Lewiston, ME, pp. 8.
- Castro, J.: 1995, 'Umweltauswirkungen des Bergbaus im semiariden Gebiet von Santa María de la Paz, Mexiko', *Ph.D. Thesis*, Institut für Petrographie und Geochemie, Universität Karlsruhe, pp. 155.
- Castro, L. J., Kramar, U. and Puchelt, H.: 1997, '200 years of mining activities at La Paz/San Luis Potosí/Mexico-Consequences for environment and geochemical exploration', *J. Geochem. Explor.* **58**, 81–91.
- Chávez, L., Alarcón, F. and Parga, J.: 1999, 'Mining Exploration Potential of VMS and Carbonate-hosted Polymetallic Deposits in Central Mexico', in J. L. Jambor (ed.), *VMS and Carbonate-hosted Polymetallic Deposits of Central Mexico*, British Columbia and Yukon Chamber of Mines, Vancouver, B.C., Canada, pp. 1–13.
- Danielsson, A., Cat, I., Carman, R. and Rahm, L.: 1999, 'Spatial clustering of metals in the sediments of the Skagerak/Kattegat', *Appl. Geochem.* **14**, 689–706.
- Díaz Barriga, F.: 1999, *Metodología de Identificación y Evaluación de Riesgos para la Salud en Sitios Contaminados*, Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente, Lima, Peru, pp. 42.
- Facchinelli, A., Sacchi, E. and Mallen, L.: 2001, 'Multivariate statistical and GIS-based approach to identify heavy metal sources in soils', *Environ. Pollut.* **114**, 313–324.
- Fernandez-Turiel, J. L., Aceñolaza, P., Medina, M. E., Llorens, J. F. and Sardi, F.: 2001, 'Assessment of smelter impact area using surface soils and plants', *Environ. Geochem. Health* **23**, 65–78.

- Hammarstrom, J. M., Kotlyar, B. B., Theodore, T. G., Elliot, J. E., John, D. A., Doebrich, J. L., Nash, J. T., Carlson, R. R., Lee, G. K., Livo, K. E. and Klein, D. P.: 1995, 'Cu, Au, and Zn-Pb Skarn Deposits', in E. A. du Bray (ed.), *Preliminary Compilation of Descriptive Geoenvironmental Mineral Deposit Models*, U.S. Geological Survey Open-File Report 95-831, pp. 90-111.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI): 1979, Matehuala F-14-A-25, 1:50 000 scale, Edafologic Chart, Mexico.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI): 1982, Real de Catorce F-14-A-24, 1:50 000 scale, Edafologic Chart, Mexico.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI): 2000, 'La Minería en México', INEGI, México, pp. 161.
<http://www.inegi.gob.mx/difusion/espanol/productos/paginas/fprodysr.html/>.
- Jung, M. C.: 2001, 'Heavy metal contamination of soils and waters in and around the Imcheon Au-Ag mine, Korea', *Appl. Geochem.* **16**, 1369-1375.
- Kempton, H. and Atkins, D.: 2000, 'Delayed Environmental Impacts from Mining in Semi-Arid Climates', in *Proceedings from the 5th International Conference on Acid Rock Drainage ICARD 2000*, Society for Mining Metallurgy and Exploration, Inc. Denver, CO, U.S.A., May 2000, pp. 1299-1308.
- Kim, M., Nriagu, J. and Haack, S.: 2000, 'Carbonate ions and arsenic dissolution by groundwater', *Environ. Sci. Technol.* **34**, 3094-3100.
- Leblanc, M., Morales, J. A., Borrego, J. and Elbaz-Poilichet, F.: 2000, '4500 year-old mining pollution in southwestern Spain: Long-term implications for modern mining pollution', *Econ. Geol.* **95**, 655-662.
- Lee, C., Chon, H. and Jung, M.: 2001, 'Heavy metal contamination in the vicinity of the Daduk Au-Ag-Pb-Zn mine in Korea', *Appl. Geochem.* **16**, 1377-1386.
- Manas, R. F.: 2000, *Arsenic Profile*, American Metal Market web site.
<http://www.amm.com/ref/arsen.html>.
- Marqués, M. J., Martínez-Conde, E., Rovira, J. V. and Ordoñez, S.: 2001, 'Heavy metals pollution of aquatic ecosystems in the vicinity of a recently closed underground lead-zinc mine (Basque Country, Spain)', *Environ. Geol.* **40**, 1125-1137.
- Mejía, J., Carrizales, L., Rodríguez, V. M., Jiménez-Capdeville, M. E., Díaz-Barriga, F.: 1999, 'Un método para la evaluación para la salud en zonas mineras', *Salud Pública de México* **42**, 132-140.
- Megaw, P.: 1999, 'The High-Temperature Ag-Pb-Zn-(Cu) Carbonate-Replacement Deposits of Central Mexico', in J. L. Jambor (ed.), *VMS and Carbonate-Hosted Polymetallic Deposits of Central Mexico*, British Columbia and Yukon Chamber of Mines, Vancouver, B.C., Canada, pp. 25-44.
- Nickson, R. T., McArthur, J. M., Ravenscroft, P., Burgess, W. G. and Ahmed, K. M.: 2000, 'Mechanism of arsenic release to groundwater, Bangladesh and West Bengal', *Appl. Geochem.* **15**, 403-413.
- Nriagu, J. O. and Pacyna J. M.: 1988, 'Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals', *Nature* **333**, 134-139.
- Ongley, L. K., Armienta, M. A., Heggeman, K., Lathrop, A. S., Mango, H., Miller, W. and Pickelner, S.: 2001, 'Arsenic removal from contaminated water by the Soyatal Formation, Zimapán Mining District, Mexico-a potential low-cost low-tech remediation system', *Geochemistry: Exploration, Environment, Analysis* **1**, 23-21.
- Sanchez, V. M. and Hiskey, J. B.: 1991, 'Electrochemical behavior of arsenopyrite in alkaline media', *Mining Metall. Proc.*, 1-6.
- Secretaría de Energía, Minas e Industria Paraestatal (SEMIP): 1992, *Monografía Geológico-Minera del Estado de San Luis Potosí*, Consejo de Recursos Minerales, Mexico, pp. 219.
- Smedley, P. L. and Kinniburgh, D. G.: 2002, 'A review of the source, behavior and distribution of arsenic in natural waters', *Appl. Geochem.* **17**, 517-568.
- Taschereau, C. and Fytas, K.: 2000, 'Arsenic in mine tailings-the Chimo Mine case study', *Internat. J. Surf. Mining, Reclam. Environ.* **14**, 337-347.

- Ullrich, M. S., Ramsey, H. M. and Helios-Rybicka, E.: 1999, 'Total and exchangeable concentrations of heavy metals in soil near Bytom, an area of Pb/Zn mining and smelting in Upper Silesia, Poland', *Appl. Geochem.* **14**, 187–196.
- United States Environmental Protection Agency (U.S. EPA): 1990, Record of Decision (ROD) Abstract ROD Number: EPA/ROD/R08-90/028 ROD Date: 03/30/90 Site: Whitewood Creek. EPA ID Number: SDD980717136. Location: Whitewood, SD. Operable Unit: 01 Environmental Protection Agency. United States.
- United States Environmental Protection Agency (U.S. EPA): 2001, 'Residential Lead Hazard Standards-TSCA Section 403'. Office of Pollution Prevention and Toxics. Environmental Protection Agency, U.S. www.epa.gov/lead/leadhaz.htm/.
- Williams, M.: 2001, 'Arsenic in mine water: An international study', *Environ. Geol.* **40**, 267–278.
- Yong, R. N.: 1999, 'In situ Geochemical Aquifer Intervention for Remediation of Arsenic-polluted Aquifers in Bangladesh and west Bengal', Project proposal submitted to Science and Technology Division, Commonwealth Science Council, London, pp. 27. <http://www.commonwealthknowledge.net/Subnetw/Perera/arsenopro.htm/>.