



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO  
INSTITUTO DE FÍSICA Y MATEMÁTICAS

CHARACTERIZATION OF THE ELEMENTAL PROFILES IN THE BIO-  
GEOSPHERE OF THE LOS AZUFRES GEOTHERMAL SPRINGS

THESIS

by

Waleed Amin Ahmad Abuhani

DOCTOR OF PHILOSOPHY  
APPLIED PHYSICS

Supervisor: Prof. Dr. Nabanita Dasgupta-Schubert

Co-Supervisor: Prof. Dr. Luis Manuel Villaseñor Cendejas

Morelia, Michoacán, México  
August 2013



# CHARACTERIZATION OF THE ELEMENTAL PROFILES IN THE BIO-GEOSPHERE OF THE LOS AZUFRES GEOTHERMAL SPRINGS

by  
Waleed Amin Ahmad Abuhani

A dissertation submitted to  
the Instituto de Física y Matemáticas, Universidad Michoacana de San Nicolás de  
Hidalgo in partial fulfillment of the requirements for the degree of  
Doctor of Philosophy

## THESIS EVALUATION COMMITTEE:

Prof. Dr. Nabanita Dasgupta-Schubert, Supervisor  
Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas,  
Instituto de Física y Matemáticas,  
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Prof. Dr. Luis Manuel Villaseñor Cendejas, Co-Supervisor  
Instituto de Física y Matemáticas  
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Prof. Dr. Mario César Suárez Arriaga  
Facultad de Ciencias Físico-Matemáticas  
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Prof. Dr. Sandra Leticia Bribiesca Vázquez  
Instituto de Investigaciones Metalúrgicas  
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

M.C. Magaly Flores Armenta  
Comisión Federal de Electricidad

M.C. Felipe Rodrigo Cervantes  
Comisión Federal de Electricidad

## EXTENDED ABSTRACT

Los Azufres geothermic area, part of the Zitacuaro volcanic complex, in Michoacán, México is located in the central part of México, 200 km NW of México City. A large number of natural hydrothermal features, such as hot springs and fumaroles, exist in the mountain area of Los Azufres. On the one hand, geothermal springs and fumaroles, investigated in Los Azufres, are a window that is representative of the environment prevalent in the early Earth. And, on the other hand, geothermal areas and the plants adapted in such area mimic the conditions on the early Earth.

Geothermal areas are the habitat of a distinct and unique collection of plants. Some of these species are very valuable to science because of their adaptations to extreme temperatures and toxic environments. These kind of plants living in the geothermal areas must be able to survive extremes of temperature, acidity, alkalinity, turbidity and toxicity, i.e. pH of acidic water could reach up to 2.2 (pH of Verde lake is 2.6). Many species found in geothermal areas are adapted and flourish in the hostile conditions and become endemic to such areas. There were few studies about the geothermal plants. Indeed, little is known about the extent, uniqueness and diversity of the living plants living in pristine geothermal areas.

There is an elevated amount of heavy and rare elements, as a result of the geothermal activity in Los Azufres. The distinctive environmental conditions associated with geothermal sites have allowed the establishment of some unusual and rare assemblages of plants. These plants have the ability to tolerate and accumulate large quantities of heavy and rare elements (hyper-accumulator plants). There are few studies that investigate the characteristics of such hyper-accumulator plants of heavy and rare metals in Los Azufres.

Amongst some of the cleanup methods, phytoremediation is considered a clean, cost-effective and non-environmentally disruptive technology, as opposed to mechanical cleanup methods that involve soil excavation or pumping polluted groundwater.

The advantages of Polarized Energy Dispersive X-Ray Fluorescence (PEDXRF) Spectrometry technique in the simultaneous analysis of elements, from  $^{11}\text{Na}$  up to  $^{92}\text{U}$ , are the easy sample preparation and the easy instrument operation. These advantages make the technique also convenient for qualitative and quantitative applications. Indeed, PEDXRF Spectrometry could analyze the solid samples without the need to prepare them in a liquid form or digested. Thus XRF has become the universal tool in analytical laboratories.

PEDXRF Spectrometry is a common tool for highly accurate, precise, and reproducible, non-destructive element analysis. The sensitivities and detection limits

obtained with direct excitation could be improved by using polarized radiation for the excitation of traces in light matrices.

The method of validation is the process used to confirm that the analytical procedure employed for a specific test is suitable for its intended use. Results from the method of validation can be used to judge the quality, reliability, and consistency of analytical results. Such method of validation is an integral part of any good analytical practice. When extended to an analytical procedure, depending upon the application, the method is reproducible, when carried out by same or different persons, in the same or different laboratories, different equipment, etc. However, method of validation should examine: accuracy, precision, limit of detection, etc.

The validity of a specific method should be demonstrated in experiments using samples or standards that are similar to unknown samples analyzed routinely. The preparation and execution should follow a validation protocol. All the objectives for this work depend on the standardization methods for the analyses of fern, moss, water, soil and sediment samples.

The objective of this work is the standardization of the method by finding the best limits of accuracy and precision technique and the preparation and analysis of the samples. Indeed, in the SPECTRO XEPOS III (Spectro Analytical Instruments GmbH) is recommend, for the best results, to use 4g in the solid phase with particle size  $\leq 100 \mu\text{m}$  loaded in a sample cup of 24 mm of diameter. However, in biological or environmental samples is difficult to obtain that amount of the sample, therefore it is important to quantify the limits of accuracy and precision (figures of merit) of the PEDXRF method for the small amount of masses and different matrices using the fundamental parameters approach of quantitative XRF analysis using the software TURBOQUANT® (Spectro Analytical Instruments GmbH, Kleve, Germany).

The method of standardization for the analysis of heavy and rare elements by PEDXRF is very important matter in the quality assurance for any work. The method of validation for PEDXRF were done by using two ceramic and soil Standard Reference Materials (SRMs), 98-a Plastic Clay (NIST, Maryland, USA) and GSS-1 (NRCG, Beijing, China) powders. The two SRMs differed in their intrinsic matrix properties, such as grain size, bulk and surface monolayer densities as well as elemental concentrations.

The incident x-ray absorption will depend on the sample area, depth, density and elemental composition of the sample. In a fixed sample cup or die and given diameter (i.e. fixed area), the depth will be dictated by the sample mass and the density by the type of sample preparation (powder or pellet).

The beam of fluoresced x-rays reaching the detector will be governed by the extent of self-absorption by the sample which will depend on its depth and elemental composition. If the smaller sample cup or pellet diameters produced nearly the same figure of merit, then smaller sample cup or pellet masses can be used. Due to the interplay of all these factors in samples of different elemental compositions, it is important to perform targeted experiments to understand the limits of accuracy and precision in PEDXRF analysis using the specific instrument (SPECTRO XEPOS III).

Different geometries of the sample cup with diameters of 10mm, 15mm (Chemplex Industries, Inc.) and 24mm (Spectro Analytical Instruments GmbH, Kleve, Germany) with the same sample thickness and different masses and aspect ratios, as well as, identical low masses (0.5 g) but varying thicknesses, were analyzed. Furthermore, different geometries of the pellet with diameters of 10mm, 15mm and 25mm with the same sample thickness and density, were used.

Powder pressed pellet produced a higher accuracy and precision than loosed powder. The pelletizing reduced the matrix interferences from inhomogeneities, reduced surface effects (high influence on the determination of light elements) and improved primary x-ray absorption. The defined shapes and higher densities for pellet improved accuracy for light elements like Na-S. Light elements (Na-S), whose x-ray (photoelectric) absorption in the cross sections is low. The higher density of the pellets produced a better figure of merit. Pelletizing was necessary for valid quantitative chemical analyses for low atomic number elements. Pellet diameter of 25mm produced the highest accuracy and precision. Therefore, most of the samples were prepared as powder pressed pellets with a diameter of 25mm without wax and one sample with wax (wax was necessary to make pellet). Later, one sample that had low mass was analyzed as loosed powder, with a sample cup of a diameter of 10mm.

ICP-AES (or ICP-OES) is an analytical technique that has been used for the detection of trace metals in environmental samples [41]. This technique has been proved to be accurate and precise in qualitative and quantitative measurements involving chemical systems. ICP-OES is one of the most common techniques for elemental analysis, its high specificity, multi-element capability analysis and good detection limits (from mid-ppb up to mid-ppm) were optimums in the use of the technique in a large variety of applications [42].

ICP-OES analysis requires that the sample must be in a solution. This can be achieved by a combined acid attack employing HF, HNO<sub>3</sub>, and HCl acids. Given the special labware and precautions required for the use of HF, the acid digestion procedure also often employed do not include HF, therefore, produce an incomplete analysis of refractory elements such as Ti, Cr, and Zr because their host minerals are often difficult to dissolve [43]. Elements closely associated with siliceous materials such as Al, Fe and Na may not be

completely released from solid material into a solution. Incomplete acid digestion reduces the concentration of trace elements available in the vegetal samples.

PEDXRF method does not compare directly with the ICP-OES method. PEDXRF method analyzes total amounts of the analyte, whereas ICP-OES method analysis only the acid digestible components.

Fern, moss, soil, sediment and water samples from Los Azufres were collected from fumarole vents or hot springs and their adjoining regions. The ambient temperature, relative humidity and light intensity were measured for every moss and fern samples.

Different trace analysis techniques were carried out for soil, sediment, water, fern and moss samples of Los Azufres, by using PEDXRF and ICP-OES methods. Soil, sediment, fern and moss samples analyses for total major and trace elements concentrations were made by using PEDXRF method; whereas the adsorbed component of the elements were made by ICP-OES method for soil and sediment samples. ICP-OES method's results for acid digested fern and moss samples were also made to cross and compare the total concentration with the PEDXRF method's results. Water samples were taken from the same locations as well as the sediments and they were also analyzed using ICP-OES method.

Fern, moss, soil, sediment and water were affected by the ecological system. The fern, moss, water, soil and sediment samples analyzed showed high, medium and low trace chemical concentrations for the same heavy and rare elements inside those samples. Every sample had specific characteristics and possessed particular elements. In fact, every sample was unique with respect to the trace element concentrations. Every fern and moss sample had the ability to concentrate specific trace elements. No one species of fern or moss had the ability to accumulate all the elements of interest. Thus each fern and moss species were accumulators of a certain type of element.

The overall objective of this study is to characterize the extremophilic plants (ferns and mosses) and the associated substrates of soil and water of selected geothermal sites of Los Azufres for their concentrations of the elements Na to U as well as B.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The submission of this thesis convoys to an end a wonderful period, of almost four years; in which I was a student at Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán, Mexico. On my way to complete this thesis I have experienced many joyous moments, as well as hurdles. I would like to thank those who gave me the strength and courage to continue and press forward.

First and foremost, I would like to thank my advisor, Prof. Dr. Nabanita Dasgupta-Schubert for her support, understanding, leading skills, quality of my work, and patience during the past four years over this project. Without her guidance as a great mentor, this work would not have been possible; it has been an honor to be her Ph.D. student, and I appreciate all her contributions of time, ideas, and funding to make my Ph.D. experience productive and stimulating. I would also like to thank co-advisor Prof. Dr. Luis Manuel Villaseñor Cendejas for taking valuable time, untiring support, advice, thoughtfulness and direction during this research, constructive criticism, fund, insightful questions and providing great input into this work. I could not have been more fortunate in my choice of supervisors.

My committee members have been an indispensable source of support to me. The warmth and suggestions I got from them, encouraged me to persevere and continuously strive to improve my work. For this dissertation I would like to thank committee members: Prof. Dr. Mario César Suárez Arriaga (FCFM), Prof. Dr. Sandra Leticia Bribiesca Vázquez (IIM), M.C. Felipe Rodrigo Cervantes (CFE), and M.C. Magaly Flores Armenta (CFE) for their support, time, interest, and helpful comments.

I feel very sincerely privileged, honored and thankful for having worked with such a great team from Comisión Federal de Electricidad (English: Federal Electricity Commission), CFE: M.C. Magaly Flores Armenta, M.C. Felipe Rodrigo Cervantes, Biol. Eugenio Pastrana Melchor, Q.F.B. Fernando Sandoval Medina, Biol. Emigdio Casimiro Espinoza, Biol. Zirahuén Ortega Gómez and others for their support in Los Azufres.

I would like to thank the people from Instituto de Investigaciones Metalúrgicas [English: Institute of Metallurgical Research], IIM: Dr. Carlos Alberto León Patiño, Dr. Victor Hugo Garduño Monroy, M.C. Maria Remedios Cisneros Magaña, M.C. Héctor Damián Hernández Orozco, for their advice and supplied materials.

I would also like to thank the people from Facultad de Biología [English: Faculty of Biology]: Dr. Daneb García Ávila, Dr. Patricia Silvia Saenz and Biol. Laura Nicolasa Suarez Soria, for their help in identifying the mosses and ferns.

I am deeply grateful to Prof. Dr. Christian Schubert, for his time, support and for improving my knowledge, inquisitive mind and for his encouragement.

I would like to acknowledge honorary Dr. Salomón Eduardo Borjas García for his support, advice, administration, assistance at work and in social life. He made my life easier in Mexico enjoyable and sociable.

This research would not have been possible without the financial support of the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (English: National Council of Science and Technology), CONACYT.

My warmest thanks go to my parents; without the love, support and encouragement of my family, this would have been a very hard journey. I thank my father for teaching me good values such as hard work and appreciation for the gift of life and my mother without whom I would not be the person that I am today.

Last, but not least, I would like to thank you, the reader. Any written work is a waste of time and effort without you, and as such I thank you for taking this important role upon your shoulders. I thank you, and hope you have as much fun reading this work as I had writing it.

Waleed Amin Ahmad Abuhani  
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo  
Morelia, Michoacán, México  
August 2013



## TABLE OF CONTENTS

|                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------|----|
| EXTENDED ABSTRACT .....                                       | i  |
| ACKNOWLEDGEMENTS .....                                        | v  |
| LIST OF TABLES .....                                          | x  |
| LIST OF FIGURES.....                                          | xi |
| CHAPTER 1: BACKGROUND AND MOTIVATION .....                    | 1  |
| 1.1 INTRODUCTION.....                                         | 1  |
| 1.2 LOS AZUFRES .....                                         | 2  |
| 1.3 RESEARCH OBJECTIVES.....                                  | 3  |
| 1.3.1 OBJECTIVES .....                                        | 3  |
| 1.3.2 STANDARDIZATION METHOD OBJECTIVE.....                   | 3  |
| 1.4 COLLABORATORS .....                                       | 4  |
| 1.5 STRUCTURE AND CHAPTER OUTLINE .....                       | 4  |
| CHAPTER 2: LITERATURE REVIEW .....                            | 6  |
| 2.1 X-RAY FLUORESCENCE SPECTROMETRY .....                     | 6  |
| 2.1.1 ENERGY DISPERSIVE X-RAY FLUORESCENCE SPECTROMETRY ..... | 6  |
| 2.1.2 EDXRF PRINCIPLE .....                                   | 7  |
| 2.1.3 WHY USE POLARIZATION? .....                             | 8  |
| 2.1.4 POLARIZED EXCITATION GEOMETRY .....                     | 9  |
| 2.1.5 MULTI-TARGETS SYSTEM .....                              | 10 |
| 2.1.5.1 FLUORESCENCE TARGET .....                             | 10 |
| 2.1.5.2 BARKLA TARGET .....                                   | 12 |
| 2.1.5.2.1 POLARIZING METHOD IN BARKLA TARGET.....             | 12 |
| 2.1.5.2.2 BARKLA TARGET PRINCIPLE.....                        | 13 |
| 2.1.5.3 BRAGG SCATTERING TARGET .....                         | 14 |
| 2.1.5.3.1 BRAGG'S LAW .....                                   | 14 |
| 2.1.5.3.2 BRAGG TARGET PRINCIPLE .....                        | 15 |
| 2.1.6 MATRIX EFFECTS .....                                    | 16 |
| 2.1.7 DETECTION SYSTEM .....                                  | 17 |
| 2.1.7.1 GAS FILLED DETECTOR.....                              | 17 |
| 2.1.7.2 SCINTILLATION DETECTOR .....                          | 18 |
| 2.1.7.3 SEMICONDUCTOR OR SOLD STATE DETECTOR .....            | 19 |

|                                                                                                                                                                                  |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.2 INDUCTIVELY COUPLED PLASMA ATOMIC EMISSION SPECTROSCOPY.....                                                                                                                 | 22 |
| 2.2.1 ICP-AES PRINCIPLE .....                                                                                                                                                    | 23 |
| 2.2.2 ICP-AES INSTRUMENTATION.....                                                                                                                                               | 23 |
| 2.3 GENERAL APPROACHES FOR SELECTING A TECHNIQUE .....                                                                                                                           | 25 |
| 2.3.1 CRITERIA FOR SELECTING AN ANALYTICAL TECHNIQUE .....                                                                                                                       | 26 |
| 2.3.2 HOW TO SELECT THE PROPER TECHNIQUE .....                                                                                                                                   | 26 |
| 2.4 PHYTOREMEDIATION .....                                                                                                                                                       | 27 |
| 2.4.1 DEFINITIONS OF TOLERANT, INDICATOR, AND HYPER-ACCUMULATOR.....                                                                                                             | 31 |
| 2.4.2 HOW DO PLANTS TAKE UP AND TRANSPORT METAL? .....                                                                                                                           | 32 |
| 2.4.3 SOLUBILIZATION OF THE METAL FROM THE SOIL MATRIX .....                                                                                                                     | 34 |
| 2.4.4 DETOXIFICATION / CHELATION .....                                                                                                                                           | 34 |
| 2.4.5 SEQUESTRATION / VOLATILIZATION.....                                                                                                                                        | 35 |
| 2.4.6 PHYTOREMEDIATION APPLICATIONS.....                                                                                                                                         | 35 |
| 2.4.6.1 DEGRADATION .....                                                                                                                                                        | 36 |
| 2.4.6.2 EXTRACTION .....                                                                                                                                                         | 36 |
| 2.4.6.3 CONTAINMENT AND IMMOBILIZATION .....                                                                                                                                     | 36 |
| CHAPTER 3: VALIDATION OF ANALYTICAL METHODS .....                                                                                                                                | 38 |
| 3.1 INTRODUCTION.....                                                                                                                                                            | 38 |
| 3.1.1 THEORETICAL BASIS OF VALIDATION OF ANALYTICAL METHOD .....                                                                                                                 | 40 |
| 3.2 MATERIALS AND METHODS.....                                                                                                                                                   | 41 |
| 3.2.1 INSTRUMENTATION .....                                                                                                                                                      | 42 |
| 3.2.2 SAMPLE PREPARATION .....                                                                                                                                                   | 42 |
| 3.3 EXPERIMENT PROCEDURE.....                                                                                                                                                    | 46 |
| 3.4 RESULTS AND DISCUSSION .....                                                                                                                                                 | 47 |
| 3.5 CONCLUSIONS.....                                                                                                                                                             | 54 |
| CHAPTER 4: TRACE ELEMENTS CHARACTERIZATION AND CONCENTRATION FOR RHIZOSPHERE SOIL, SEDIMENT AND WATER<br>IN VENT OR /AND NEAR THE FUMARoles AND HOT SPRINGS IN LOS AZUFRES ..... | 56 |
| 4.1 INTRODUCTION.....                                                                                                                                                            | 56 |
| 4.2 MATERIALS AND METHODS.....                                                                                                                                                   | 59 |
| 4.2.1 INSTRUMENTATION .....                                                                                                                                                      | 59 |
| 4.2.2 SAMPLING SITES .....                                                                                                                                                       | 59 |
| 4.2.3 SAMPLE PREPARATION .....                                                                                                                                                   | 62 |

|                                                                                                                                                               |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.2.3.1 SAMPLE PREPARATION FOR RHIZOSPHERE SOIL AND SEDIMENT .....                                                                                            | 62  |
| 4.2.3.2 SAMPLE PREPARATION FOR WATER.....                                                                                                                     | 65  |
| 4.3 RESULTS AND DISCUSSION .....                                                                                                                              | 65  |
| 4.4 CONCLUSIONS .....                                                                                                                                         | 79  |
| CHAPTER 5: TRACE ELEMENTS CHARACTERIZATION AND CONCENTRATION FOR MOSSES AND FERNS IN VENT OR / AND<br>NEAR THE FUMARoles AND HOT SPRINGS IN LOS AZUFRES ..... | 80  |
| 5.1 INTRODUCTION.....                                                                                                                                         | 80  |
| 5.1.1 PHYTOREMEDIATION .....                                                                                                                                  | 83  |
| 5.1.1.1 HYPER-ACCUMULATOR PLANTS .....                                                                                                                        | 84  |
| 5.1.2 OBJECTIVES .....                                                                                                                                        | 85  |
| 5.2 MATERIAL AND METHODS .....                                                                                                                                | 85  |
| 5.2.1 INSTRUMENTATION .....                                                                                                                                   | 85  |
| 5.2.2 SITE DESCRIPTIONS .....                                                                                                                                 | 86  |
| 5.2.3 SAMPLE PREPARATION PROCEDURES .....                                                                                                                     | 87  |
| 5.3 RESULTS AND DISCUSSION .....                                                                                                                              | 90  |
| 5.4. CONCLUSIONS .....                                                                                                                                        | 106 |
| CHAPTER 6: CONCLUSIONS.....                                                                                                                                   | 107 |
| APPENDIX.....                                                                                                                                                 | 110 |
| APPENDIX 1: SPECTRO XEPOS III .....                                                                                                                           | 110 |
| APPENDIX 2: TURBOQUANT.....                                                                                                                                   | 111 |
| APPENDIX 3: MIXER MILL MM 400 .....                                                                                                                           | 112 |
| APPENDIX 4: SIEVE .....                                                                                                                                       | 114 |
| APPENDIX 5: MORTAR AND PESTLE.....                                                                                                                            | 115 |
| APPENDIX 6: HOW DOES THE HYDRAULIC PRESS WORK? .....                                                                                                          | 116 |
| APPENDIX 7: PRODUCTION OF PELLETS.....                                                                                                                        | 118 |
| APPENDIX 8: MOSS .....                                                                                                                                        | 120 |
| APPENDIX 9: FERN.....                                                                                                                                         | 121 |
| APPENDIX 10: ACCURACY AND PRECISION.....                                                                                                                      | 122 |
| BIBLIOGRAPHY .....                                                                                                                                            | 124 |

## LIST OF TABLES

|                                                                                                                                                    |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Table 2- 1: Comparison of energy conversion factors for detector types [38].....                                                                   | 22 |
| Table 2- 2: Comparison between XRF, ICP-AES and ICP-MS [50, 52, 49 and 46].....                                                                    | 27 |
| Table 3- 1: SRMs concentrations for elements.....                                                                                                  | 43 |
| Table 3- 2: Sample cup diameters details; the same physical depth with different weights and diameters, for GSS-1 and 98a Plastic Clay. ....       | 46 |
| Table 3- 3: Sample cup diameters details; the same weight=0.5g with different physical depth and diameters, for GSS-1 and 98a Plastic Clay. ....   | 46 |
| Table 3- 4: Die diameters details; the same physical depth with different weights and diameters, for GSS-1 and 98a Plastic Clay. ....              | 47 |
| Table 3- 5: Comparison between different sample cup diameters and weights, with the same physical depth, for GSS-1 and 98a Plastic Clay. ....      | 47 |
| Table 3- 6: Comparison between different sample cup diameters and physical depth, with the same weight = 0.5g; for GSS-1 and 98a Plastic Clay..... | 49 |
| Table 3- 7: Comparison between different die diameters and weights, with the same physical depth, for GSS-1 and 98a Plastic Clay. ....             | 52 |
| Table 4- 1: Map coordinates. ....                                                                                                                  | 61 |
| Table 4- 2: Plant names for each rhizosphere soil sample. ....                                                                                     | 62 |
| Table 4- 3: Site and date of sampling for each soil and sediment sample. ....                                                                      | 64 |
| Table 4- 4: Weight, density and physical depth for each soil and sediment pellet. ....                                                             | 64 |
| Table 4- 5: Location and date of sampling for each water, soil and sediment sample. ....                                                           | 65 |
| Table 4- 6: Chemical traces elements concentration comparison between analyzed (PEDXRF) soil and sediment samples with Earth's crust. ....         | 76 |
| Table 5- 1: Sampling site, date of sampling and note for sampling location for fern samples.....                                                   | 87 |
| Table 5- 2: Sampling site, date of sampling and note for sampling location for moss samples. ....                                                  | 88 |
| Table 5- 3: Pellets detail for each fern sample. ....                                                                                              | 89 |
| Table 5- 4: Pellets detail for each moss sample.....                                                                                               | 89 |
| Table 5- 5: Scientific name of fern samples and correlated with the part of fern.....                                                              | 90 |
| Table 5- 6: Scientific name of moss samples. ....                                                                                                  | 91 |
| Table 5- 7: Different parameters measured on the sites, for fern samples. ....                                                                     | 92 |
| Table 5- 8: Different parameters measured on the sites, for moss samples.....                                                                      | 92 |

## LIST OF FIGURES

|                                                                                                                                                                                                                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 2- 1: Two-step process for XRF. ....                                                                                                                                                                                                                           | 7  |
| Figure 2- 2: Secondary or characteristic x-rays produced from the primary x-rays. ....                                                                                                                                                                                | 8  |
| Figure 2- 3: Schematic diagram of an electromagnetic wave propagating at velocity <b>C</b> in the x direction. The electric field <b>E</b> vibrates in the xy plane, and the magnetic field <b>B</b> vibrates in the xz plane. ....                                   | 8  |
| Figure 2- 4: Different EDXRF with a) direct excitation and b) EDXRF with polarized excitation (PEDXRF). ....                                                                                                                                                          | 9  |
| Figure 2- 5: Polarized excitation geometry for PEDXRF. ....                                                                                                                                                                                                           | 10 |
| Figure 2- 6: The basic geometry of secondary target excitation. ....                                                                                                                                                                                                  | 11 |
| Figure 2- 7: X-ray from a tungsten target at 100 kV, comparison between continuous and characteristic x-ray. ....                                                                                                                                                     | 11 |
| Figure 2- 8: A schematic representation of the principle behind polarization through Barkla scattering. ....                                                                                                                                                          | 12 |
| Figure 2- 9: Demonstration of Bragg's law. ....                                                                                                                                                                                                                       | 14 |
| Figure 2- 10: Absorption and enhancement. ....                                                                                                                                                                                                                        | 16 |
| Figure 2- 11: Schematic diagram of a gas filled detector. ....                                                                                                                                                                                                        | 18 |
| Figure 2- 12: Buildup of a scintillation detector. ....                                                                                                                                                                                                               | 19 |
| Figure 2- 13: Types of semiconductors; schematic diagram showing only the valence electron shell to illustrate intrinsic, p-type and n-type semiconductors. ....                                                                                                      | 20 |
| Figure 2- 14: P-N junction or diode. ....                                                                                                                                                                                                                             | 20 |
| Figure 2- 15: Principle of construction a p-i-n solid state detector along with its readout by charge sensitive preamplifier. ....                                                                                                                                    | 21 |
| Figure 2- 16: Major components and layout of a typical ICP-AES instrument. ....                                                                                                                                                                                       | 24 |
| Figure 2- 17: Schematic cross-section of an ICP. ....                                                                                                                                                                                                                 | 25 |
| Figure 2- 18: Phytoremediation principle. ....                                                                                                                                                                                                                        | 28 |
| Figure 2- 19: Excavation of a site contaminated by metals, explosives, volatiles and semi-volatiles; soil before (left) and after (right) clean up. ....                                                                                                              | 28 |
| Figure 2- 20: Water paths inside the cells, different photos for apoplastic, symplastic and transcellular pathway. ....                                                                                                                                               | 32 |
| Figure 2- 21: Pathway of metal / nutrient uptake in plants. ....                                                                                                                                                                                                      | 33 |
| Figure 2- 22: Schematic diagrams of a young root: (a) longitudinal section, indicating the zones that can occur near the root tip; and (b) cross-sectional view approximately 10mm back from the tip, indicating the arrangement of the various cell types [68]. .... | 33 |
| Figure 2- 23: Schematic transverse section through a leaf, indicating the arrangement of various cell types. Often about 30 to 40 mesophyll cells occur per stoma [68]. ....                                                                                          | 34 |
| Figure 2- 24: Schematic representation of a mature mesophyll cell from the leaf of a flowering plant, suggesting some of the complexity resulting from the presence of many membrane surrounded sub-cellular compartments [68]. ....                                  | 35 |
| Figure 3- 1: Different sample cup diameters 24, 15 and 10mm. ....                                                                                                                                                                                                     | 43 |
| Figure 3- 2: Different die diameters 10, 15 and 25mm. ....                                                                                                                                                                                                            | 44 |
| Figure 3- 3: Different pellet diameters 25, 15 and 10mm. ....                                                                                                                                                                                                         | 44 |
| Figure 3- 4: Comparison between accuracy factor and precision versus Z for each element in GSS-1; the same physical depth for different sample cup diameters and weights. ....                                                                                        | 48 |
| Figure 3- 5: Comparison between accuracy factor and precision versus Z for each element in 98a Plastic Clay; the same physical depth for different sample cup diameters and weights. ....                                                                             | 48 |
| Figure 3- 6: Comparison between accuracy factor and precision versus Z for each element in GSS-1; the same weight = 0.5g, with different sample cup diameters and physical depth. ....                                                                                | 50 |
| Figure 3- 7: Comparison between accuracy factor and precision versus Z for each element in 98a Plastic Clay; the same weight = 0.5g for different sample cup diameters and physical depth. ....                                                                       | 50 |

|                                                                                                                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 3- 8: Comparison between accuracy factor and precision versus Z for each element in GSS-1; the same physical depth for different die diameters and weights. ....            | 52 |
| Figure 3- 9: Comparison between accuracy factor and precision versus Z for each element in 98a Plastic Clay; the same physical depth for different die diameters and weights. .... | 53 |
| Figure 4- 1: Nopalito I. ....                                                                                                                                                      | 60 |
| Figure 4- 2: Cumbres I. ....                                                                                                                                                       | 60 |
| Figure 4- 3: Cumbres II. ....                                                                                                                                                      | 60 |
| Figure 4- 4: Laguna Verde. ....                                                                                                                                                    | 61 |
| Figure 4- 5: Location for the four sites in Los Azufres. ....                                                                                                                      | 61 |
| Figure 4- 6: Pellets for sediment samples 5 and 6. ....                                                                                                                            | 63 |
| Figure 4- 7: Pellets for soil samples 6 and 7. ....                                                                                                                                | 63 |
| Figure 4- 8: Trace element comparison for different soil samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Si, Fe, Al, Ti and Ga. ....                           | 66 |
| Figure 4- 9: Trace element comparison for different soil samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements K, S, P, Ba and Mn. ....                              | 66 |
| Figure 4- 10: Trace element comparison for different soil samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Zr, Sr, V, Cr and Zn. ....                           | 67 |
| Figure 4- 11: Trace element comparison for different soil samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Cl, Nd, Ni, Ga and Cu. ....                          | 67 |
| Figure 4- 12: Trace element comparison for different soil samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Nb, Y, As, La and Co. ....                           | 68 |
| Figure 4- 13: Trace element comparison for different soil samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Hg, Rb, Pb, Sn and Th. ....                          | 68 |
| Figure 4- 14: Trace element comparison for different soil samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Sb, Te, Hf, Mo and I. ....                           | 69 |
| Figure 4- 15: Trace element comparison for different soil samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Ce, Pr, Br, Ag and W. ....                           | 69 |
| Figure 4- 16: Trace element comparison for different soil samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Ta, U, Cd and Se. ....                               | 70 |
| Figure 4- 17: Trace element comparison for different sediment samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Si, Al, S, Fe and Ti. ....                       | 70 |
| Figure 4- 18: Trace element comparison for different sediment samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements K, Ca, P, Ba and Mn. ....                        | 71 |
| Figure 4- 19: Trace element comparison for different sediment samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Cl, Zr, Sr, V and Cr. ....                       | 71 |
| Figure 4- 20: Trace element comparison for different sediment samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Nd, Zn, Ni, Ce and Rb. ....                      | 72 |
| Figure 4- 21: Trace element comparison for different sediment samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Y, Ga, Cu, As and Co. ....                       | 72 |
| Figure 4- 22: Trace element comparison for different sediment samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Nb, Pb, Hg, Sn and Th. ....                      | 73 |
| Figure 4- 23: Trace element comparison for different sediment samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements La, Hf, Mo, W and U. ....                        | 73 |
| Figure 4- 24: Trace element comparison for different sediment samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Br, Sb and Se. ....                              | 74 |

|                                                                                                                                                                     |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figure 4- 25: Trace element comparison for different soil samples locations with the same elements, by using ICP-AES, elements Fe, Al, S, K, P and B.....           | 76  |
| Figure 4- 26: Trace element comparison for different sediment samples locations with the same elements, by using ICP-AES, elements S, Fe, Al, K, P and B.....       | 77  |
| Figure 4- 27: Trace element comparison for different water samples locations with the same elements, by using ICP-AES, elements S, Fe, B, K, Al and P.....          | 77  |
| Figure 4- 28: Ratio (ICP-AES/PEDXRF) of concentration comparison for different soil samples locations with the same elements, elements Fe, S, P, Al and K.....      | 78  |
| Figure 4- 29: Ratio (ICP-AES/PEDXRF) of concentration comparison for different sediment samples locations with the same elements, elements Fe, S, P, K and Al. .... | 78  |
| Figure 5- 1: Trace element comparison for different fern samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Si, Al, Fe, K and Ca.....              | 93  |
| Figure 5- 2: Trace element comparison for different fern samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements S, P, Ti, Cl and Cr. ....              | 94  |
| Figure 5- 3: Trace element comparison for different fern samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Mn, Ba, Zn, Rb and Sr.....             | 94  |
| Figure 5- 4: Trace element comparison for different fern samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Cu, Pb, Nd, Ni and Ag.....             | 95  |
| Figure 5- 5: Trace element comparison for different fern samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Br, Sn, Te, Sb and Pr.....             | 95  |
| Figure 5- 6: Trace element comparison for different fern samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Zn, V, Ga, Th and Cd.....              | 96  |
| Figure 5- 7: Trace element comparison for different fern samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements As, I, Hg, Nb and Mo. ....             | 96  |
| Figure 5- 8: Trace element comparison for different fern samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Y, Hf, Tl, Bi and Se. ....             | 97  |
| Figure 5- 9: Trace element comparison for different fern samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Co, Ta, W and U. ....                  | 97  |
| Figure 5- 10: Trace element comparison for different moss samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Si, Al, Fe, Ca and S. ....            | 98  |
| Figure 5- 11: Trace element comparison for different moss samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Ti, K, P, Cu and Cl. ....             | 98  |
| Figure 5- 12: Trace element comparison for different moss samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Ba, Zr, Zn, Cr and Sr.....            | 99  |
| Figure 5- 13: Trace element comparison for different moss samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Mn, V, Nd, Br and Sn.....             | 99  |
| Figure 5- 14: Trace element comparison for different moss samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Pb, Y, Te, Sb and Ta.....             | 100 |
| Figure 5- 15: Trace element comparison for different moss samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Ni, Ga, Nb, As and Th. ....           | 100 |
| Figure 5- 16: Trace element comparison for different moss samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Rb, Hg, W, U and Tl. ....             | 101 |
| Figure 5- 17: Trace element comparison for different moss samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Pr, I, Cd, Mo and Se.....             | 101 |
| Figure 5- 18: Trace element comparison for different moss samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Co, Ag and Ce.....                    | 102 |

|                                                                                                                                                                            |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figure 5- 19: Trace element comparison for different fern samples locations with the same elements, by using ICP-OES, elements Al, Fe, K, S, P and B.....                  | 103 |
| Figure 5- 20: Trace element comparison for different moss samples locations with the same elements, by using ICP-OES, elements Fe, Al, K, S, P, B and Pb.....              | 104 |
| Figure 5- 21: Ratio (ICP-OES/PEDXRF) of concentration comparison for different fern samples locations with the same elements, elements P, S, Al, K and Fe.....             | 105 |
| Figure 5- 22: Ratio (ICP-OES/PEDXRF) of concentration comparison for different moss samples locations with the same elements, elements Pb, K, Fe, S, Al and P.....         | 105 |
| Figure A- 1: The principle for SPECTRO XEPOS III and main parts; orthogonal x-ray tube, secondary target, sample and detector arrangement to produce polarized x-ray. .... | 110 |
| Figure A- 2: Mixer Mills MM 400. ....                                                                                                                                      | 112 |
| Figure A- 3: Oscillations in a horizontal position for balls and grinding jars.....                                                                                        | 113 |
| Figure A- 4: Different sieve holes sizes. ....                                                                                                                             | 114 |
| Figure A- 5: Mortar and pestle. ....                                                                                                                                       | 115 |
| Figure A- 6: Hydraulic press. ....                                                                                                                                         | 116 |
| Figure A- 7: Principle of hydraulic press. ....                                                                                                                            | 116 |
| Figure A- 8: Pellet. ....                                                                                                                                                  | 118 |
| Figure A- 9: Procedure to make pellet without wax. ....                                                                                                                    | 118 |
| Figure A- 10: The procedure to make pellet with wax. ....                                                                                                                  | 118 |
| Figure A- 11: Die 25mm. ....                                                                                                                                               | 119 |
| Figure A- 12: Moss. ....                                                                                                                                                   | 120 |
| Figure A- 13: Fern. ....                                                                                                                                                   | 121 |
| Figure A- 14: Target practice, demonstrating the difference between accuracy and precision. ....                                                                           | 123 |



## CHAPTER 1: BACKGROUND AND MOTIVATION

### 1.1 INTRODUCTION

Geothermal areas are habitat to distinct and unique collections of plants, animals and micro-organisms. Some of these species are very valuable to science because of their adaptations to extreme temperatures and toxic environments. The plants, animals and micro-organisms that live in geothermal areas must be able to survive extremes of: temperature, acidity and alkalinity, turbidity, toxicity, e.g. acidity of the water can reach a pH of 2.2. Many species found in geothermal areas are specially adapted to flourish in the hostile conditions. Some of them are endemic to geothermal areas. There were few studies on the plants, animals and micro-organisms living in geothermal areas. Indeed, little is known about the extent, uniqueness and diversity of the living things that were found in pristine geothermal areas [1].

Springs are water forms that naturally emerge from underground; springs become hot from active geothermal energy. This happens when the earth underneath is heated with radioactive decay, friction from natural formation in the crust, or heat from the earth's natural heavy metal content [2]. While, fumaroles are steam and gas vents, they are common on the flanks of active volcanoes as well as in geothermal fields, where temperatures are generally close to the boiling point of water [3].

Geothermal water starts life as rainwater, which seeps down through cracks in the rock towards a heat source deep within the earth. Hot water is less dense than cold water, so it rises and emerges at the earth's surface, sometimes as steam or mixed with steam. The hot water reacts with the rock it comes into contact with, and becomes enriched with dissolved minerals. Geothermal fluids are potentially significant sources of valuable minerals and metals as well as a source of indigenous energy, for direct uses such as bathing or heating, and for electricity conversion. The chemical components of geothermal fluids are determined by their source (e.g. meteoric, seawater, magmatic), the rock types with which they have reacted along their flow path, the temperature of those interactions, and the chemistry of the fluid. Reservoir processes such as mixing and boiling also impact fluid chemistry; the chemistry of fluids sampled at the surface therefore reflects their chemical and physical history [4].

The distinctive environmental conditions associated with geothermal sites allow unusual and rare assemblages of plants species to become established and adapted [5]; those plants which adapted to extreme condition in thermal springs and fumaroles zones, exist in several sites of Mexico. This is unique feature of the ecology of geothermal zones has not been sufficiently studied in Mexico.

There is strong, and growing, scientific interest in how inhabitants of geothermal areas adapt to living in some of the most extreme conditions on earth. The capacity of extremophile plants near the thermal springs to accumulate and tolerance heavy metals makes them interesting object of study for the environmental biotechnology of phytoremediation. Hyper-accumulator plant uses roots to absorb metal contaminants from the soil and translocate them to the parts of the plant that is above the soil. Once the plants have grown and absorbed the metal they are harvested and disposed of safely. This process is repeated several times to reduce contamination (heavy metal) to acceptable levels [6].

The mechanism of the adaption of plants to such extreme conditions and their mechanism of heavy metal accumulation and tolerance is not sufficiently known. Possibly the cell wall structure contains components able to withstand high temperatures, such as silica ( $\text{SiO}_2$ ) and the mechanism of accumulation may involve only passive transport such as movement via diffusion or osmotic potential. Active processes in metal ion transport across the cellular membrane where metabolic energy is involved may not be operative in these plants though this fact is not known with certainty. Understanding the mechanism of metal transport in terms of the localization of accumulation sites within the plant and the kinetic of transport and how extreme environmental conditions affect these two features, are crucial for the utilization of these plants as model bio-structure of extreme living conditions and for their use in phytoremediation.

Geothermal springs and fumaroles of Los Azufres investigated in the current study are represent the environment of primitive Earth and offer a window to the distant past. Geothermal areas mimic conditions on the early earth. The plants are adapted to conditions that possibly mimic those of the early Earth and other earth like planets. Los Azufres is very interesting area for such investigations and study.

## 1.2 LOS AZUFRES

Los Azufres geothermic area, part of the Zitacuaro volcanic complex, in Michoacán, México is located in the central part of México, 200 Km NW of México City. The volcano contains hot springs and fumaroles. Hot springs and fumaroles are located along E-W trending faults, and Los Azufres is an active producing geothermal field. Los Azufres is a heavily fractured and faulted volcanic hydrothermal system in the northern portion of the trans-Mexican volcanic belt, 80 km east of Morelia city. Los Azufres zone consists of a 18 x 20 km wide early Pleistocene caldera that was later partially filled by resurgent dacitic-to-rhyolitic lava domes, and the summit elevation equal 3400m. The geothermal area has been under commercial exploitation to generate electricity since 1982 [7 and 8].

## **1.3 RESEARCH OBJECTIVES**

### **1.3.1 OBJECTIVES**

- 1- To map geothermal plants (fern and moss) growing in the fumaroles and hot springs of Los Azufres, Michoacán, México for their capacity to concentrate tracer metals.
- 2- To validate a method of standardization for the analysis of heavy and rare elements.
- 3- To analyze trace elements in soil, sediment and water samples and correlated with plant (fern and moss) composition
- 4- To analyze the morphological distributions of the elements in the plant (roots and rest of the plant).
- 5- To determine which plants (fern and moss) can be used to remove specific heavy elements.

### **1.3.2 STANDARDIZATION METHOD OBJECTIVE**

Method validation is the process used to confirm that the analytical procedure employed for a specific test is suitable for specific use. Results from method validation can be used to judge the quality, reliability, and consistency of analytical results. It is an integral part of any good analytical practice. When extended to an analytical procedure, depending upon the application, it means the method is reproducibility, when carried out by same or different persons, in same or different laboratories, different equipment etc. [9]. Validation should examine: accuracy, precision, limit of detection, etc.

The validity of a specific method should be demonstrated in laboratory experiments using samples or standards that are similar to unknown samples analyzed routinely. The preparation and execution should follow a validation protocol [9]. All the objectives for this work depend on the standardization method for analysis the fern, moss, soil, sediment and water samples.

Standardization method objective for this work is to find the best accuracy and precision technique to prepare and analysis the samples. Different experiments done to achieve this aim by using different standards reference materials.

## 1.4 COLLABORATORS

Many groups from different institutes, departments and CFE Company, were involved in this work; every collaborator has done part or supports this work. The collaboration groups are: A) Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (México); the institutes and departments collaborates are: 1) Instituto de Física y Matemáticas [English: Institute of Physics and Mathematics], IFM; 2) Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas [English: Institute of Chemical Biology], IIQB; 3) Facultad de Biología [English: Faculty of Biology]; 4) Instituto de Investigaciones Metalúrgicas [English: Institute of Metallurgical Research], IIM; 5) Facultad de Física y Matemáticas [English: Faculty of Physics and Mathematics], FCFM; B) Comisión Federal de Electricidad [English: Federal Electricity Commission], CFE (Mexico); C) University of Texas (USA); D) Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung GmbH [English: Helmholtz Centre for Environmental Research GmbH], UFZ (Germany).

## 1.5 STRUCTURE AND CHAPTER OUTLINE

The PhD thesis is organized into six chapters, connected to the research objectives. A brief description of the outlined chapter is provided below.

In chapter two, introduction, background and theoretical outlines to the thesis are presented. Outlines provided information regarding the general background of this study: first, general techniques principle for PEDXRF and ICP-AES; and comparison between both techniques; PEDXRF explained in detail; second, the principle of phytoremediation; general biology and engineering description for phytoremediation.

In chapter three, validation analysis method for the PEDXRF spectrometry; in the most environmental samples the amount and weight for the mass is low as in our samples; the best protocol and method to analysis the samples is our objective from this chapter; the best protocol will follow in the next chapters and on the lab for other samples.

In chapter four, analysis results for the soil, sediment and water samples collected from Los Azufres; trace chemical elements analysis by PEDXRF spectrometry for soil and sediment samples, while, ICP-AES spectrometry for soil, sediment and water samples are presented. Samples were collected in /and near to the fumarole vents and hot springs.

In chapter five, analysis results for the fern and moss samples collected from Los Azufres; trace chemical elements analysis by PEDXRF and ICP-AES spectrometry are shown. The samples were collected in / and near to the fumarole vents and hot springs.

In chapter six, general thesis summary conclusions; hyper-accumulator plants in Los Azufres found; comparison between different techniques to analysis trace chemical

elements for the environmental samples, and which technique is better; why the results for the trace elements concentration are different between PEDXRF and ICP-AES.

In order to support the work, several appendixes are provided: SPECTRO XEPOS III, TURBOQUANT, mixer mill MM 400, sieve, mortar and pestle, how the hydraulic press works, production of pellets, moss, fern, and accuracy and precision.

## CHAPTER 2: LITERATURE REVIEW

### 2.1 X-RAY FLUORESCENCE SPECTROMETRY

X-Ray Fluorescence (XRF) spectrometry combines highest accuracy and precision with non-destructive analytical technique, simple and fast sample preparation for the analysis of elements from Na (WDXRF start from Be) to U in concentration range from 100% to the sub-ppm-level [10, 11, 12, and 13]. The method used to identify and determine the concentrations of elements present in solid, powdered and liquid samples [14 and 15]. XRF spectrometry is an elemental analysis technique with broad application in science and industry [11 and 16]. Applications include metal, cement, oil, polymer, plastic and food industries, mineralogy, geology, and environmental analysis of water and waste materials. XRF is also a very useful technique for research and pharmacy [17, 18 and 19].

Most of the XRF instruments in use today fall into two categories: energy dispersive and wavelength dispersive spectrometers. Within these two categories is a tremendous variety of differing configurations, x-ray sources, optics, and detector technologies [17 and 18].

#### 2.1.1 ENERGY DISPERSIVE X-RAY FLUORESCENCE SPECTROMETRY

Energy Dispersive X-Ray Fluorescence (EDXRF) spectrometry is an analytical technique used for the elemental analysis or chemical characterization of a sample [20]. Additional, it's method particularly applicable to the qualitative and quantitative analysis of low concentrations of elements in wide range of samples, as well as allowing the analysis of elements at higher concentrations materials [21].

What is good about EDXRF? [16]:

- Non-destructive and reliable: In the vast majority of cases, analyzed samples are not destroyed or changed by exposure to x-rays. Samples can thus be saved for future reference or used for other types of testing that may be destructive.
- Minimal preparation: Many samples can be examined with little or no pre-treatment. Most alternative techniques require dissolution procedures that are both time consuming and costly in terms of the acids or other reagents required.
- Fast: x-ray spectrometry enables chemical compositions to be determined in short time.
- Easy to use: Modern instruments run under computer control, with effective software to handle measurement set-up and results calculation.

- Cost effective: Without the more involved sample preparation necessary in XRF and all destructive analysis, the cost is significantly lowered per sample (economical analytical method).
- Good precision and accuracy.
- Multi-element analysis per shot, depend if qualitative or quantitative analysis needs.
- Applicable over a wide range of concentrations, trace levels often below one part per million and up to 100%.
- Element range:  $_{11}\text{N}$  -  $_{92}\text{U}$ .

### 2.1.2 EDXRF PRINCIPLE

EDXRF technique is a two-step process that begins with incident x-rays (or gamma rays) produced by a source are concentrated and guided to the sample. Some of these x-rays will pass through the sample, but some will be reflected off its surface. When incident photons enter the sample and collide with the electrons present in the atoms, physical reactions occur that cause to removal of an inner shell electron of an atom (figure 2-1). The resulting vacancy is filled by an outer shell electron. The second step is the transition from the outer shell electron orbital to an inner shell electron orbital. This transition is accompanied by emission of a secondary x-rays or characteristic x-rays, hit a detector. The energy of the fluorescent photon is characteristic of the element and it's equal to the energy difference between the two electron energy levels. Thus the energy of the fluorescent photon provides qualitative information concerning the elements identity (figure 2-2). The number or intensity of fluorescent photons is characteristic of the amount or concentration of the elements present [17, 18, and 19].

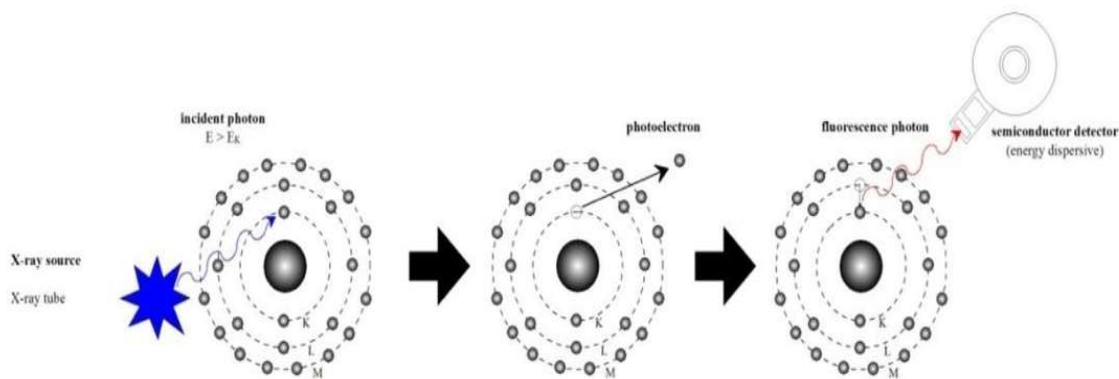


Figure 2- 1: Two-step process for XRF.

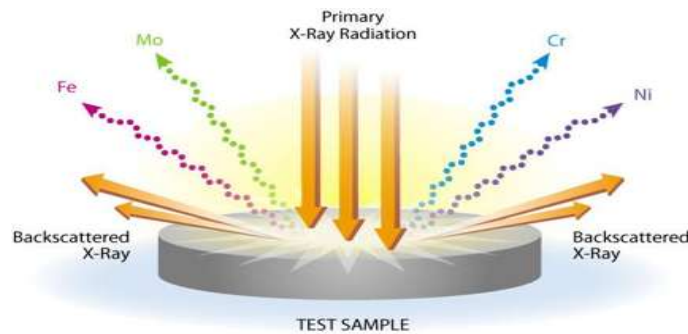


Figure 2- 2: Secondary or characteristic x-rays produced from the primary x-rays.

The atoms in the sample material, which could be any solid, powder or liquid, are excited by x-rays emitted from an x-ray tube or radioisotope. For increasing sensitivity the primary excitation radiation can be polarized by using specific targets between the x-ray tube and the sample. All elements, having specific x-ray fluorescence signals emitted by the atoms after the photoelectric ionization are measured simultaneously in a fixed semiconductor detector or sealed gas proportional counter [10, 22 and 23].

The radiation intensity of each element signal, which is proportional to the concentration of the element in the sample, is recalculated internally from a stored set of calibration curves and can be shown directly in concentration units [24].

### 2.1.3 WHY USE POLARIZATION?

Polarized x-ray defined as the electromagnetic (figure 2-3) vibrations oscillating repeatedly in only one direction perpendicular to the direction of propagation. Or, electric vector oriented in a predictable fashion with respect to the propagation direction. In unpolarized x-ray, the vector is oriented in a random, un-predictable fashion. Even in short time intervals, it appears to be oriented in all directions with equal probability. Most x-ray sources seem to be partially polarized so that some fraction of the x-ray is polarized and the remainder un-polarized [25 and 19].

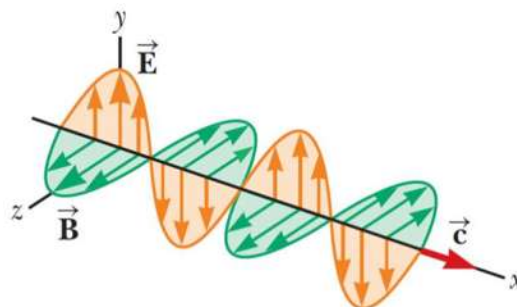


Figure 2- 3: Schematic diagram of an electromagnetic wave propagating at velocity  $\vec{c}$  in the x direction. The electric field  $\vec{E}$  vibrates in the xy plane, and the magnetic field  $\vec{B}$  vibrates in the xz plane.



In classical EDXRF, direct excitation is used. These techniques suffer from a high spectral background which is a result of the excitation x-ray scatter (figure 2-4). In EDXRF bad peak to background ratios are the result. However, EDXRF was developed further with the use of polarized x-ray. Details, the main reason for using polarization x-ray is to improve analytical sensitivities (figure 2-4). This leads to a better peak to background ratio and therefore better sensitivity (user's manual SPECTRO XEPOS III).

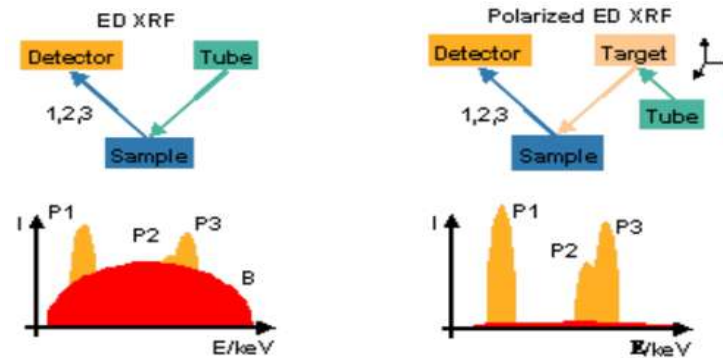


Figure 2- 4: Different EDXRF with a) direct excitation and b) EDXRF with polarized excitation (PEDXRF).

#### 2.1.4 POLARIZED EXCITATION GEOMETRY

A more fundamental way of minimizing scattered background is to use a polarized excitation source. The principle behind this arrangement (figure 2-5) is that if a sample is excited by a polarized beam of x-rays, there is a low probability that this radiation will be scattered at an angle of  $90^\circ$  (orthogonal) to the plane of polarization. If, therefore, the fluorescence spectrum is detected at  $90^\circ$  to the plane of polarization of the exciting beam, the intensity of background radiation originating from scatter will be significantly reduced. As a consequence, detection limit capabilities will be correspondingly improved. The scattered radiation is only reduced, not eliminated [26].

To polarize x-ray its necessary certain geometry: tube, target, sample and detector must be arranged in a Cartesian geometry [19 and 27]. Polarization is performed by changing the direction of x-rays by  $90^\circ$ . However, it is not important which physical process is involved in polarizing x-ray. The x-rays coming out of the tube are reflected or scattered by the target with an angle of  $90^\circ$  to the sample; this means that the non-polarized x-rays from the tube are polarized at the target. Then the polarization plane is the same as for the target, sample, and detector. Once these polarized x-rays hit the sample, it can only be scattered orthogonal to the plane and because the detector is placed inside the plane, it can only detect the fluorescence radiation coming from the elements in the sample (user's manual SPECTRO XEPOS III).

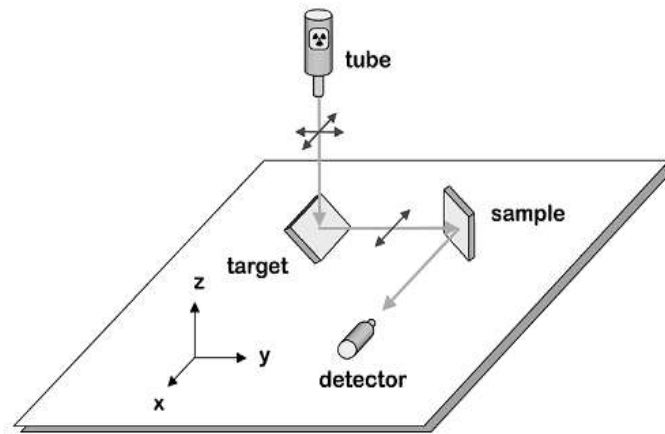


Figure 2- 5: Polarized excitation geometry for PEDXRF.

### 2.1.5 MULTI-TARGETS SYSTEM

Polarizing targets offer further analytical advantages, as I mentioned before. Whereas some target materials merely scatter the x-ray tube radiation onto the sample, other materials fluoresce yielding intense, almost monochromatic x-rays that irradiate the sample. By using targets of different materials it is possible to optimize the excitation source specifically for analyze elements of interest. Secondary targets divided into three types: 1) fluorescence target; 2) Barkla target; 3) Bragg scattering target [19, 14, and 11].

#### 2.1.5.1 FLUORESCENCE TARGET

In practice it would take experimental expenditure and would be expensive, to use for each element an optimal x-ray tube; therefore, often fluorescent targets are used. The basic principles when working with secondary targets are to generate nearly monochromatic radiation and to use it for excitation [User's manual SPECTRO XEPOS III, 17 and 12].

Partial polarized can be achieved using secondary target excitation geometry. The x-ray output from an x-ray tube is used to excite a secondary target, normally a metal, i.e. Co, Zn, Ge, Zr, Pd and Sm, having characteristic of energy suitable to excite the range of elements of interest. The optical arrangement of x-ray tube, secondary target, sample and detector is the same orthogonal geometry (figure 2-6). The sample is then excited by the characteristics secondary target radiation and tube radiation scattered off the secondary target, which is polarized, leading to some suppression of the scattered background in detected spectra [26, 11 and user's manual SPECTRO XEPOS III].

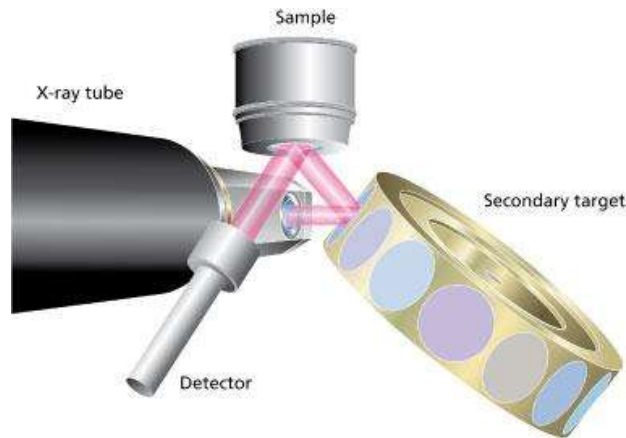


Figure 2- 6: The basic geometry of secondary target excitation.

The principle of secondary target excitation was developed to avoid the intense Bremsstrahlung continuum (figure 2-7) from the x-ray tube by using a target between tube and sample [18]. The ratio of the intensity of the characteristic lines to the continuum in secondary target excitation is much higher than that in direct tube excitation because the continuum part of the excitation spectrum of the secondary target is generated only by scattering. One can excite various elements efficiently by selecting a secondary target that has characteristic lines just above the absorption edges of the elements of interest in the sample [19]. Therefore, secondary target excitation has some obvious advantages over direct tube excitation: its flexibility for getting an optimized and near monochromatic excitation providing a better selectivity and an improved sensitivity. Details, secondary target can produce monochromatic and polarized or non-polarized x-ray that depends on the quantity and elements interest [12 and 18]. Polarized x-ray improved the detection limit for light elements, on the other hand, less necessary for heavy elements [17].

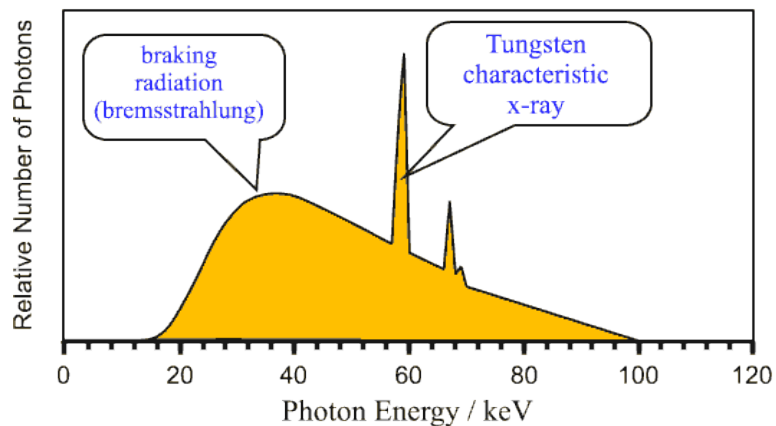


Figure 2- 7: X-ray from a tungsten target at 100 kV, comparison between continuous and characteristic x-ray.

## 2.1.5.2 BARKLA TARGET

### 2.1.5.2.1 POLARIZING METHOD IN BARKLA TARGET

The best way to understand polarizing radiation of Barkla scattering is through a simple classical analysis of Compton scatter. Consider the incident photon to be an electromagnetic wave of which the direction of the electric vector changes randomly with time, i.e. un-polarized radiation. Based on the properties of electromagnetic radiation, the direction of the electric vector is constrained to lie within the plane perpendicular to the direction of wave motion, or the plane perpendicular to the page based on figure 2-8. Therefore, at any given time the electric vector can be resolved into two components, one in the horizontal plane and one in the vertical plane,  $E_H$  and  $E_V$  [28].

When an electric vector oscillating in the horizontal plane approaches an electron, the electron essentially becomes a dipole, oscillating in the horizontal plane parallel to  $E_H$ . The dipole created through the interaction of the electron and the electric vector results in radiation emission. Radiation emitted from a dipole tends to have an electric vector oriented parallel to the dipole moment, and the radiation is therefore emitted in a plane perpendicular to this direction. This is demonstrated in figure 2-8; the electrons interacting with  $E_H$  establish a dipole in the horizontal direction, which in turn results in radiation emitted in the vertical plane. Similarly, electrons interacting with  $E_V$  establish a dipole in the vertical direction, which results in radiation emitted in the horizontal plane [28, 25 and 29].

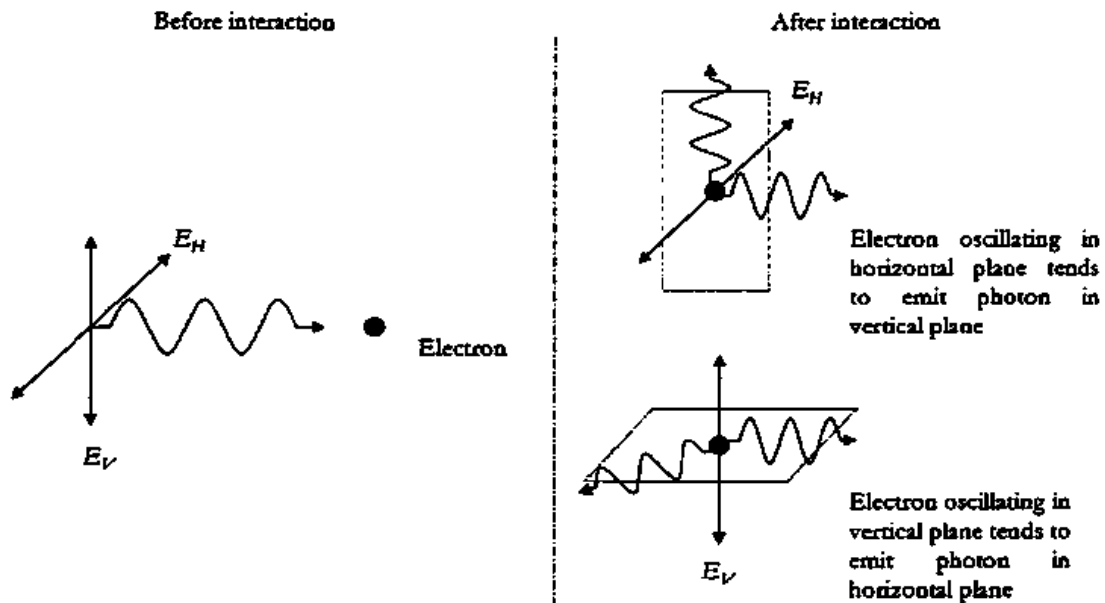


Figure 2- 8: A schematic representation of the principle behind polarization through Barkla scattering.

The key is that, classically, a dipole cannot radiate along its dipole direction. Therefore, any photons observed at  $\theta = 90^\circ$  in the horizontal plane, i.e. along the direction of  $E_H$ , must have been a result of interactions between the electron and electric vectors parallel to  $E_v$  and will therefore be polarized parallel to  $E_v$ . Similarly, any photons observed at  $90^\circ$  scatter angles in the vertical plane, i.e. photons observed in the direction of  $E_v$ , must have been due to scatter of  $E_H$  polarized photons, and will therefore be polarized parallel to  $E_H$ . This is a simple, classical description of the scattering of electromagnetic radiation by electrons and is therefore necessarily only an approximate account of these interactions. However, this description provides an adequate picture of the scattering process to allow for a visualization of the method of polarization through Barkla scatter [28, 25 and 29].

The angle of scatter of the primary, un-polarized, radiation is of vital importance. If the purpose of this scatter is to generate a polarized beam, then extracting the scattered flux along the direction of  $E_H$  or  $E_v$  will serve this purpose. Therefore, scatter at angles other than  $90^\circ$  will occur, resulting in components of the extracted beam having electric vectors at angles to the vector associated with scatter at  $90^\circ$ , causing a decrease in the degree of polarization of the secondary beam. Furthermore, a polarizer of reasonable thickness is required to generate an intense secondary beam, resulting in a portion of the primary beam undergoing multiple scatter events. This, in general, also adds to the depolarization of the secondary beam. Therefore, the optimal polarizer solid angle and thickness must be selected as a compromise between polarization and beam intensity [28].

#### 2.1.5.2.2 BARKLA TARGET PRINCIPLE

Barkla targets use scattered x-ray tube radiation to excite the sample. These targets also fluoresce but the energy or intensity of these lines is too low to excite elements in the sample. Barkla targets are made of light elements like  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (Aluminum Oxide) and  $\text{B}_4\text{C}$  (Boron Carbide), because these give the highest scattered radiation. In other words, Barkla target scatters the entire continuum rather than relying on producing characteristic line energies. However, Barkla target allows obtaining intense non-monochromatic or polychromatic polarized x-rays [28, 29 and user's manual SPECTRO XEPOS III]. Barkla targets can be used to analyses a large range of elements. Generally Barkla targets analyses the heavier elements [19].

Energy-Dispersive X-Ray Fluorescence analysis is ideally suited to measuring a wide range of elements simultaneously because all photon energies are separately binned. When the analytical goal is to exploit this capability of measuring many elements with good sensitivity and low detection limits, a polarized polychromatic source is preferred [11].

Materials with a very small average atomic number are especially suited for this. They have a relatively small mass-attenuation coefficient in the energy ranges of interest,

so that the thickness of the scattering target must be increased in order to obtain a sufficiently high scattering intensity [11].

### 2.1.5.3 BRAGG SCATTERING TARGET

#### 2.1.5.3.1 BRAGG'S LAW

A crystal can be seen as a stack of thin layers all having the same thickness [19], as shown in figure 4-9. In other words, Crystals consist of a periodic arrangement of atoms (molecules) that form the crystal lattice [30]. However, all of the atoms in a unit cell will be bathed in the x-ray beam and, in fact, all will be scattering in all directions. It is not necessary that there be any atoms on the planes for diffraction to be thought of as occurring from them but, it makes our picture a little easier to understand [31]. If a parallel beam of x-rays falls on the crystal, the first layer reflects a fraction of the x-ray. The remaining radiation penetrates the crystal and is reflected by the subsequent layers. If the difference in path length between reflections from layers is a multiple of half the wavelength of the radiation, the two reflected beams vanish. If the difference is exactly an integer times the wavelength, the two reflected beams reinforce. The difference in path length is an integer times the wavelength; the following relation, called Bragg's law [19]:

$$n \cdot \lambda = 2d \cdot \sin(\theta) \quad (2.1)$$

Where,  $\lambda$  is the wavelength in meters of the incident beam,  $\theta$  is the angle of incidence; and  $n$  is an integer representing the number of wavelengths required for constructive interference to occur [19 and 32]. This equation allows us to relate the distance between a set of planes in a crystal and the angle at which these planes will diffract x-rays of a particular wavelength [31].

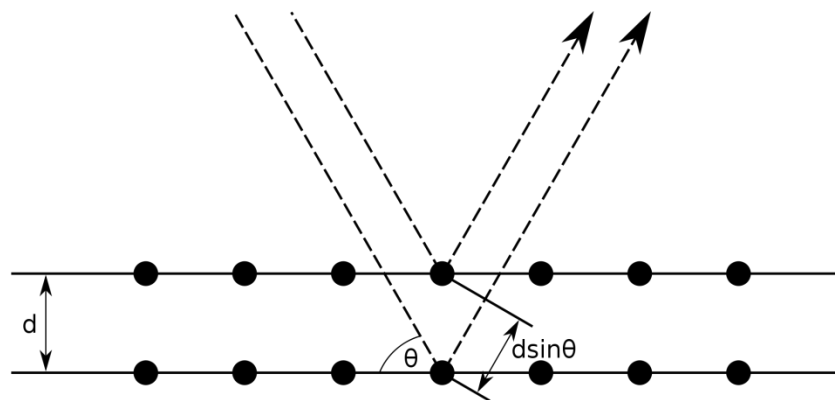


Figure 2- 9: Demonstration of Bragg's law.

At an angle  $\theta$ , all reflected radiation with a wavelength  $\lambda$  and obeying Bragg's law are in phase and add up. All other wavelengths at the same angle will vanish [19].

When parallel x-ray strikes a lattice plane, every particle within it acts as a scattering centre and emits a secondary wave. All of the secondary waves combine to form a reflected wave. The same occurs on the parallel lattice planes for only very little of the x-ray wave is absorbed within the lattice plane distance  $d$  [33].

Diffraction of x-ray beams occurs when the x-ray interacts with the electron cloud surrounding the atoms of the crystalline solid. Due to the periodic crystalline structure of a solid, it is possible to describe it as a series of planes with an equal inter-planer distance. As an x-rays beam hits the surface of the crystal at an angle  $\theta$ , some of the x-ray will be diffracted at the same angle away from the solid. The remained of the x-ray will travel into the crystal and some of that x-ray will interact with the second plane of atoms. Once again some of the x-ray will be diffracted at an angle  $\theta$ , and the remainder will travel deeper into the solid. This process will repeat for the many planes in the crystal. The x-ray beams travel different path lengths before hitting the various planes of the crystal, so after diffraction, the beams will interact constructively only if the path length difference is equal to an integer number of wavelength [34].

A detector placed at angle  $\theta$  can therefore measure the intensity of the corresponding wavelength. Reflected wavelengths obeying Bragg's law for  $n=1$  are called first order reflections, and for  $n=2$  second order reflections etc. [19].

At any specific angle, only radiation with a wavelength obeying Bragg's law is reflected. Radiation with slightly different wavelengths will be reflected at slightly different angles, but will still reach the detector and will interfere with the energy to be measured. A collimator, which is a set of parallel plates, is used to obtain a parallel x-ray beam that falls exactly at the required angle on the crystal. The primary collimator is placed between the sample and crystal, and a secondary collimator can be placed between the crystal and detector [19].

#### **2.1.5.3.2 BRAGG TARGET PRINCIPLE**

Bragg targets are crystals that reflect only specific energy in a certain direction. By mounting the crystal between the tube and the sample it is possible to select a single tube line to irradiate the sample, with no other radiation diffracted towards the sample. This will reduce the background and improve the detection limit. If the spacing of the planes in the crystal is such that the tube line is diffracted at an angle of  $90^\circ$ , it can be used in 3D optics as a perfect polarizer. Highly Oriented Pyrolytic Graphite (HOPG) crystal can produce intense monochromatic polarized x-ray with specific wavelength for interest elements [19]. Generally, Bragg targets analyses the lighter elements [29 and user's manual SPECTRO XEPOS III].

### 2.1.6 MATRIX EFFECTS

Ideally, the intensity of an analytical line is linearly proportional to the concentration of the analyte and, across a limited range, this is the case. However, the intensity of an analytical line does not only depend on the concentration of the originating element. It also depends on the presence and concentrations of the other elements. These other elements can lead to attenuation or to enhancement [19].

Figure 4-10 (left) illustrates the absorption effect. To reach atoms inside a specimen, the x-rays from the source must first pass the atoms that are above them, and the fluorescence from the atoms must also similarly pass these atoms. These overlying atoms will absorb a part of the incoming radiation and a part of the fluorescent radiation. The absorption depends on which elements are present and on their concentrations. In general, heavy elements absorb more than light elements [19].

Figure 4-10 (right) shows the enhancement effect. An element is excited by the incoming radiation and in some cases also by the fluorescence of other elements. Whether or not this occurs and how large the effect is depends on the elements and their concentrations [19].

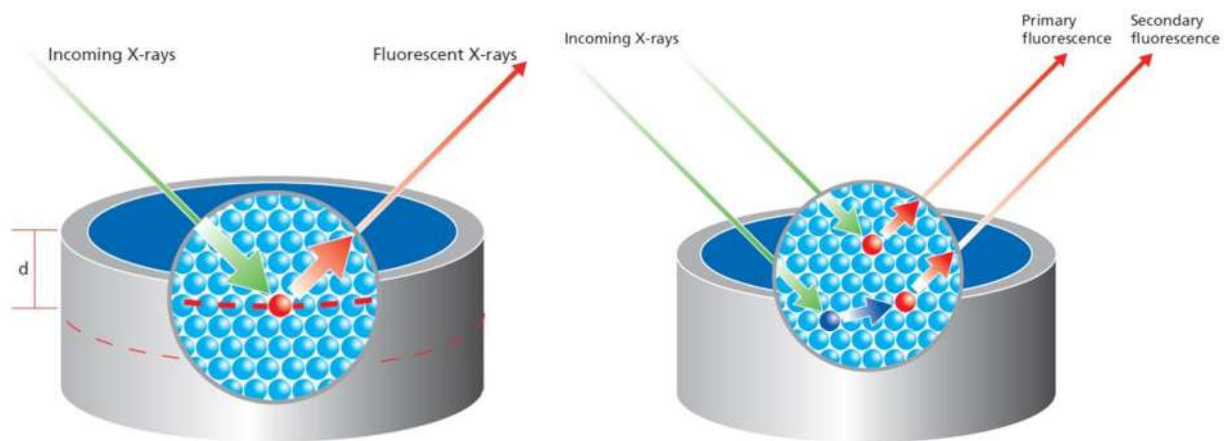


Figure 2- 10: Absorption and enhancement.

Primary absorption occurs because all atoms of the specimen matrix will absorb photons from the primary source. Since there is a competition for these primary photons by the atoms making up the specimen, the intensity/wavelength distribution of these photons available for the excitation of a given analyte element may be modified by other matrix elements. Secondary absorption refers to the effect of the absorption of characteristic analyte radiation by the specimen matrix. As characteristic radiation passes out from the specimen in which it was generated, it will be absorbed by all matrix elements, by amounts relative to the mass absorption coefficients of these elements. The mass absorption coefficient is a parameter which defines the magnitude of the absorption of a



certain element for a specific x-ray wavelength. The total absorption of a specimen is dependent on both primary and secondary absorption [31].

Enhancement effects occur when a non-analyte matrix element emits a characteristic line that has energy just in excess of the absorption edge of the analyte element. This means that the non-analyte element in question is able to excite the analyte, giving characteristic photons over and above those produced by the primary continuum. This gives an increased, or enhanced, signal from the analyte [31].

### **2.1.7 DETECTION SYSTEM**

Radiation is detected using special systems which measure the amount or number of ionizations or excitations events that occur within the detector's sensitive volume. Ionizing radiation is rarely detected directly. Instead, detectors usually measure the secondary products arising from the interactions of the radiation with the detector material. The collection of the ionization created by radiation in a detector volume can be used simply to detect the passage of a radiation. The rate of generation of radiation induced pulses can then be used to measure the rate at which radiation traverse the detector. Such detectors are termed radiation counters [35].

Different types of detectors are used in XRF. EDXRF mainly uses solid state detectors where WDXRF uses gas filled and scintillation detectors. The EDXRF detector is a wide range detector and analysis all elements from Na up to U. Gas filled detectors measure elements from Be up to Cu; long wavelengths x-rays. All these detectors produce an electrical pulse when an x-ray photon enters the detector, and the height of this pulse is proportional to the energy of the incoming photon. The pulses are amplified and then counted by a multi-channel analyzer [19].

At the low energies x-ray, the processes are limited to Compton scattering, Thomson/Rayleigh scattering and the most important interactions for EDXRF is photoelectric effect [17, 18 and 13].

The types of detector used most frequently are: 1) gas filled detector; 2) scintillation detector; 3) solid state (or semiconductor) detector.

#### **2.1.7.1 GAS FILLED DETECTOR**

Gas filled detectors operate by utilizing the ionization produced by radiation as it passes through a gas, ionization of the gas molecules. Typically, such a counter consists of two electrodes to which a certain electrical potential is applied. The space between the electrodes is filled with a gas, normally inert gas, i.e. Ar, Ne, Xe and He. Ionizing radiation,

passing through the space between the electrodes, dissipates part or all of its energy by generating electron and positive ion pairs (figure 2-11). Both electrons and ions are charge carriers that move under the influence of the electrical field. The negative electrons will move to the anode and the positive ions to the cathode that motion induces a current on the electrodes, which may be measured. Or, through appropriate electronics, the charge produced by the radiation may be transformed into a pulse, in which case particles are counted individually. The number of electrons is proportional to the energy of the incoming radiation [10, 36, 37, 22 and 19].

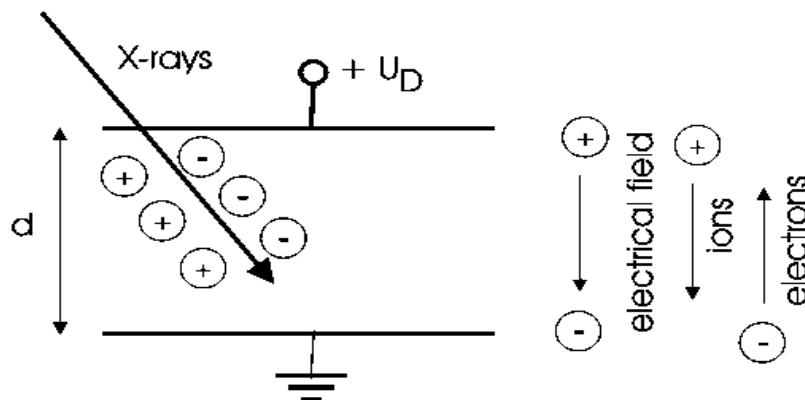


Figure 2- 11: Schematic diagram of a gas filled detector.

### 2.1.7.2 SCINTILLATION DETECTOR

Scintillators are materials, solids, liquids and gases that produce sparks or scintillations of light when ionizing radiation passes through them. The amount of light produced in the scintillator is very small. It must be amplified before it can be recorded as a pulse or in any other way. The amplification or multiplication of the scintillator's light is achieved with a device known as the photomultiplier (PM) tube or phototube [23].

The operation of a scintillation counter divided into two steps (figure 2-12): first step, absorption of incident radiation energy by the scintillator, electrons are raised to excited states and after subsequent de-excitation the scintillator emits a photon in the visible light range; second step, the photon, emitted from the scintillator, interacts with photocathode of a photomultiplier tube, releasing electrons. The electrons emitted by the photocathode are guided, with the help of an electric field, towards the first anode, which is coated with a substance that emits secondary electrons, if electrons impinge upon it. The secondary electrons from the first dynode move towards the second, from there toward the third, and so on [23 and 38].

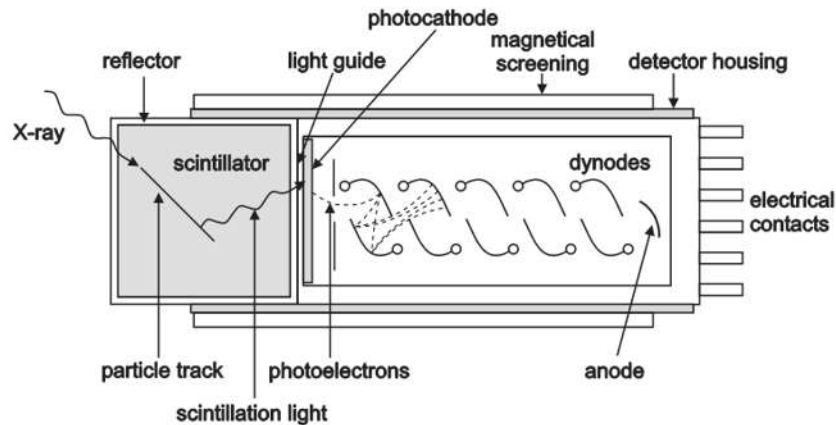


Figure 2- 12: Buildup of a scintillation detector.

### 2.1.7.3 SEMICONDUCTOR OR SOLD STATE DETECTOR

Compared with other materials, semiconductors have unique properties that make them very suitable for the detection of ionizing radiation. Most commonly used semiconductor detector materials are germanium and silicon but also other compound materials are used, such as GaAs CdTe and CdZnT. Germanium (Ge) is suitable for measurements of fairly high energy x-rays due to high Z-value, while silicon (Si) detectors reasonable efficiency for few tens of keV energies for x-ray [39].

The average energy for semiconductor to creating an electron-hole pair 3.65eV (High Pure Ge) is an order of magnitude smaller than the ionization energy of gases 30eV. Therefore, the energy of x-rays can be measured with much higher precision and down to lower energies than is possible with gas detectors [39 and 38].

Semiconductor has high energy resolution than those from other detectors such as gas ionization detectors or scintillation detectors and with comparatively good registration efficiency [38].

The high density for the semiconductor leads to a short absorption length of low and medium energy x-rays and to a large energy loss per traversed length of the ionizing particle. Therefore, it is possible to build thin detectors that still produce large enough signals to be measured [39 and 38].

In general, x-ray analyzing instruments use Si semiconductor detectors, e.g. in PEDXRF; Ge detectors are generally used for  $\gamma$ -ray counting, e.g. in instrumental neutron activation analysis (INAA) [38]. Pure Si is an intrinsic (i) semiconductor (figure 2-13), providing excellent material for a detector; however, even purest available Si contains some residual impurities such as Boron (B), causing it become a conductor by creating

holes in the valence band of Si. These holes become charge carriers, allowing current to flow, it's called a p-type semiconductor, in p-type semiconductor the concentration of holes in the valence band higher than electrons. On other hand, n-type semiconductor have concentration of electrons in the conduction band more than holes, that by Adding of Li or P (add electrons) to the Si crystal conduction band, swamp out the effects of B impurities [40].

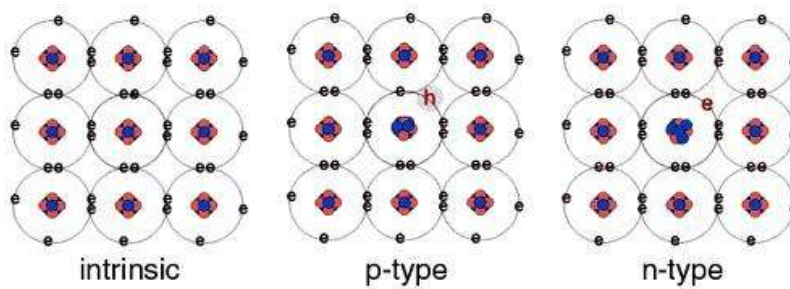


Figure 2- 13: Types of semiconductors; schematic diagram showing only the valence electron shell to illustrate intrinsic, p-type and n-type semiconductors.

Different types of semiconductors can be combined to yield useful electronic devices. For example, a p-n junction, also called a diode, will only allow current to flow in one direction. Placing a voltage across a diode causes the electrons in the n-type zone to move across the contact and towards the positive terminal and the holes in the p-type zone to move the opposite way across the contact towards the negative terminal. When the electrons and holes reach each other they recombine causing a current flow to through the diode (figure 2-14). Although the electrons and holes flow in opposite directions, the current only flows one way because the charge carriers have opposite polarities [40].

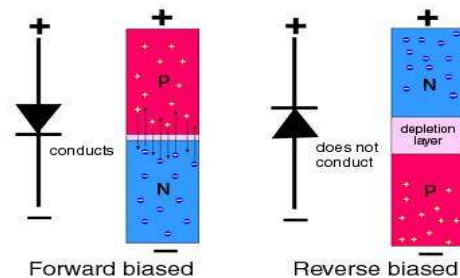


Figure 2- 14: P-N junction or diode.

A forward-bias situation applies when the p-type silicon is connected to the positive terminal of a battery and the n-type silicon is connected to the negative terminal; a current will flow. With a reverse bias, p-type silicon is connected to the negative terminal of a battery, no current will flow.

Si Detector crystals are doped with Li, an electron donor, in a process called drifting. Li drifting makes Si a better semiconductor by swamping out the effects of impurities. Li

drifted crystals are called silly for Si(Li) and jelly for Ge(Li). A detector crystal consists of 2-5 mm thick Si crystal, with gold contacts on its ends. A bias is applied across the crystal causing a current to flow. The Si crystal consists of a Li-drifted intrinsic region facing the specimen (p-type) and an adjacent Li free region (intrinsic). The front contact, Li free region and Li drifted intrinsic region form a p-i-n junction. The crystal is maintained at low temperatures to prevent diffusion of Li from the intrinsic region to the Li free region [40].

The reverse biased n-p junction constitutes an attractive radiation detector. The depletion region, which is the active volume, has high resistivity, and ions produced there by radiation can be collected swiftly and efficiently. It can serve as a rate meter or to analyze pulses. The number of electron-hole pairs produced in a pulse is proportional to the energy absorbed in the active volume, and so the junction can be used as a spectrometer [10].

When an x-ray (or  $\gamma$ -ray) quantum hits the semiconductor detector crystal, it is absorbed and produces a high energy photoelectron. The photoelectron knocks a valence band electron into the conduction band producing an electron-hole pair (figure 2-15), formed by ionization processes. This interaction uses up some of the energy of the photoelectron, and the slightly less energetic photoelectron continues to produce more electron-holes pairs until its energy is dissipated. On average for a Si crystal, 3.8 to 3.9 eV are dissipated per electron-hole pair created. Thus, x-rays with energy more than 1 keV make many holes. The bias placed across the detector crystal causes the electron-hole pairs to migrate and increases the conductivity of the crystal. In the barrier zone electrons and ions are quickly separated by the electric field and accelerated towards the field boundaries, electrons move towards the n-region, ions towards the p-region. In the outer circuit this causes a short time current on the detector and a spurious capacity which can be measured, the total charge conducted is directly proportional to the energy of the absorbed x-ray [10 and 40].

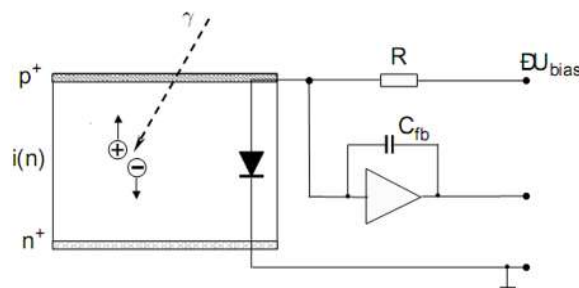


Figure 2- 15: Principle of construction a p-i-n solid state detector along with its readout by charge sensitive preamplifier.

Advantages of the semiconductor detectors are: 1) high density (electron densities) and atomic number (thinner detectors); 2) very sensitive; 3) electron-hole energy low to

produce; 4) pulse height proportional to the energy of radiation; 5) high carrier mobility, less than 30ns to collect entire signal. On the other hand, disadvantages of the semiconductor detectors are: 1) semiconductor detectors are relative expensive; 2) most semiconductor detectors, need cooling; 3) semiconductor detectors under the influence of ionizing radiation can be damaged [10 and 38].

In energy dispersive x-ray spectroscopy different types of semiconductor detectors are in use. The most common detector types are: 1) barrier layer detectors; 2) p-i-n detectors; 3) High Purity Germanium (HPGe) detectors; 4) position sensitive detectors [10].

| Comparison of energy conversion factors for detector types | Detector type          | Energy eV |
|------------------------------------------------------------|------------------------|-----------|
| Energy needed to create an ion pair                        | Semiconductor detector | 3-5       |
|                                                            | Gas filled detector    | 25-35     |
| Incident energy needed to produce a scintillation photon   | Scintillation detector | 30        |

Table 2- 1: Comparison of energy conversion factors for detector types [38].

## 2.2 INDUCTIVELY COUPLED PLASMA ATOMIC EMISSION SPECTROSCOPY

Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy (ICP-AES) also referred to as Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES) is an analytical technique used for the detection of trace metals in environmental samples [41]. The Technique is accurate and precise qualitative and quantitative measurements involving chemical systems. ICP-AES is one of the most common techniques for elemental analysis. Its high specificity, multi-element capability and good detection limits (from mid-ppb up to mid-ppm) result in the use of the technique in a large variety of applications [42]. All kinds of dissolved samples can be analyzed, varying from solutions containing high salt concentrations to diluted acids [41].

ICP-AES is an analytical technique used to determine the elemental composition of materials. ICP-AES is just one of many different types of atomic spectroscopy methods. The modern ICP-AES systems on the market are capable of analysis 70 different elements.

ICP-AES analysis requires a sample to be in solution. Thus, interstitial waters can be analyzed simply, requiring only dilution in most cases. Igneous rocks, sedimentary rocks, and sediments, however, must be dissolved. This can be achieved either by a combined acid attack employing HF, HNO<sub>3</sub>, and HCl acids, or by a LiBO<sub>2</sub> flux-fusion technique similar to that used for XRF preparation [43].

### 2.2.1 ICP-AES PRINCIPLE

The determination of the elemental composition of a material by ICP-AES is possible due to the fact that when a substance is placed into a hot plasma torch, the atoms of the substance will become excited and light energy will be emitted. This is the fundamental idea behind atomic emission spectroscopy. Physical spectroscopists use emitted light, absorbed light, or scattered light in order to understand the mechanics of a chemical system. Analytical spectroscopists use the same physical processes to determine the content and concentration of the atomic and molecular species present in a chemical system [44].

Introducing atoms into plasma will cause the atoms to become excited, and result in atomic emissions that can be observed, captured, and studied. Details of the relaxation of the excited electrons as they return to the ground state is accompanied by the emission of photons of light with an energy characteristic of the element. Because the sample contains a mixture of elements, a spectrum of light wavelengths is emitted simultaneously. The spectrometer uses a grating to disperse the light, separating the particular element emissions and directing each to a dedicated photomultiplier tube detector. The more intense this light is, the more concentrated the element. A computer converts the electronic signal from the photomultiplier tubes into concentrations [44].

### 2.2.2 ICP-AES INSTRUMENTATION

ICP-AES consists of two parts: Inductively Coupled Plasma, ICP and Atomic (or Optical) Emission Spectroscopy, AES or OES.

ICP is an argon plasma maintained by the interaction of a radio frequency, RF field and ionized argon gas. The ICP reaches temperatures as high as 10,000 °K (7,500 °K in the central channel), with the sample experiencing useful temperatures between 5,500 °K and 8,000 °K. These temperatures allow complete atomization of the elements in a sample, minimizing chemical interference effects [45].

The sample, which usually must be in a liquid form, is pumped at 1 mL/min, usually with a peristaltic pump into a nebulizer (figure 2-16), the constant motion and pressure of the rollers on the pump tubing feed the sample to the nebulizer, where it is converted into a fine aerosol with argon gas at about 1 L/min, which is very similar to the spray mechanism of a can of deodorant [46]. The benefit of a peristaltic pump is that it ensures a constant flow of liquid, irrespective of differences in viscosity between samples, standards, and blanks. The fine droplets of the aerosol, which represent only 1–2% of the sample, are separated from larger droplets by means of a spray chamber; the spray chamber's function is primarily to allow only the small droplets to enter the plasma. Its secondary purpose is

to smooth out pulses that occur during the nebulization process, due mainly to the peristaltic pump [47 and 48]. The fine aerosol then emerges from the exit tube of the spray chamber and is transported into the plasma torch via a sample injector [47].

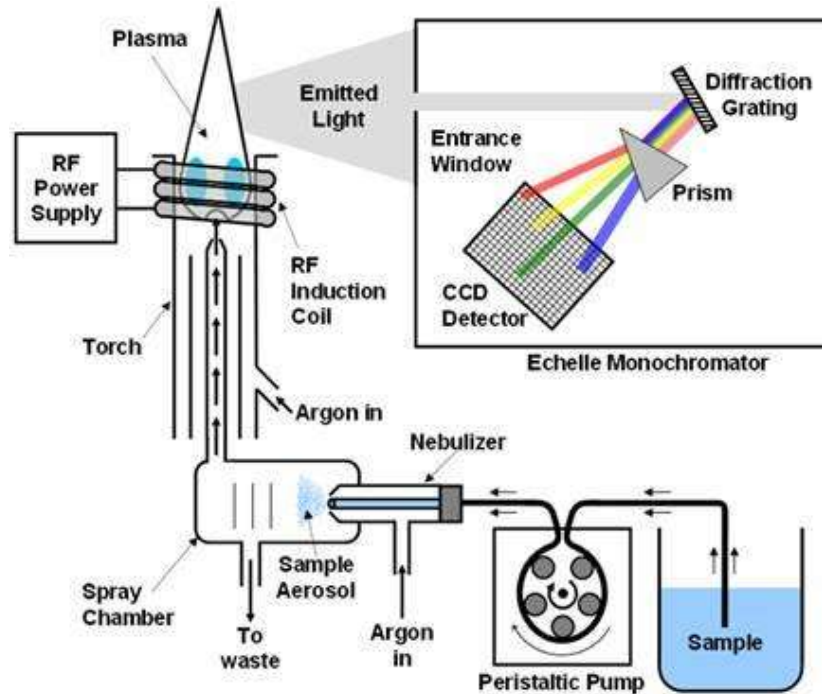


Figure 2- 16: Major components and layout of a typical ICP-AES instrument.

A copper coil surrounds the top portion of the torch and is connected to a Radio Frequency (RF) generator. As RF power is applied to the coil, an alternating current begins to oscillate, generally at a frequency of either 27 or 40 MHz within the coil (figure 2-17). This oscillating current generates a strong electromagnetic field in the top of the torch. As argon gas flows through the torch, a high voltage spark is applied to the gas, which strips some argon atoms of their electrons. These electrons are accelerated by the magnetic field and collide with other argon atoms, stripping off their electrons in turn. This process continues in a chain reaction, resulting in an ICP discharge consisting of argon atoms, argon ions, and electrons [47]. This discharge is continually sustained within the torch by influx of RF power into the load coil and provides the temperature and energy required to ionize the majority of the elements in the periodic table [41]. The sample is injected as an aerosol through the center of the doughnut (figure 2-16). This characteristic of the ICP confines the sample to a narrow region and provides an optically thin emission source and a chemically inert atmosphere. This results in a wide dynamic range and minimal chemical interactions in an analysis [45].



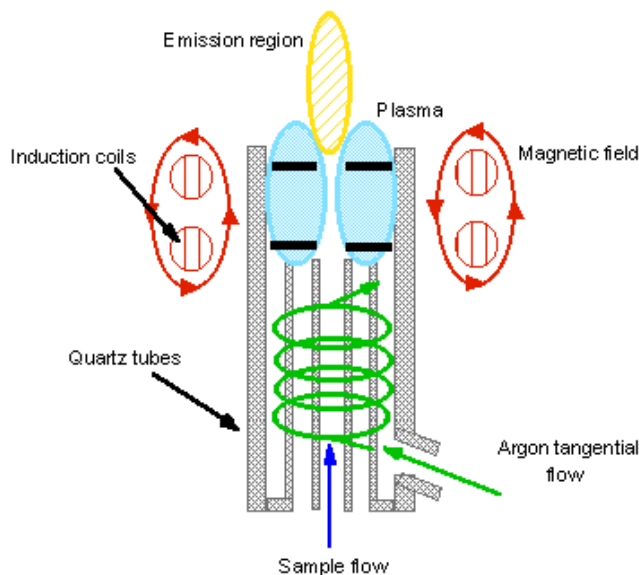


Figure 2- 17: Schematic cross-section of an ICP.

Atomic (or Optical) Emission Spectroscopy (AES or OES) is the measurement of the light emitted by the elements in a sample introduced into an ICP source. The excited atoms and ions emit their characteristic radiation which is collected by a device that sorts the radiation by wavelength. The radiation is detected and turned into electronic signals that are converted into concentration information for the analyst. Furthermore, the measured emission intensities were compared to the intensities of standards of known concentration to obtain the elemental concentrations in the unknown sample [49].

### 2.3 GENERAL APPROACHES FOR SELECTING A TECHNIQUE

There are two main approaches for selecting an analytical technique. The first one is to determine the analytical tasks and targets, then to purchase the most suitable instruments that will allow the users to obtain the desired results easily and with sufficient quality. This is the ideal way and thus must be followed whenever the budgetary conditions allow. The second approach is to see what instruments are available or what equipment could be purchased; then the analytical capability, laboratory, tasks and targets are accordingly determined [50].

In all cases, a balance will have to be established considering the financial resources and analytical tasks required. Nevertheless, the basic knowledge for comparison of analytical techniques would be very useful to give correct decisions in order to purchase the proper chemical analysis instruments in trace element analysis [50].

### 2.3.1 CRITERIA FOR SELECTING AN ANALYTICAL TECHNIQUE

These performance criteria are sometimes called analytical figure of merit; figure of merit is a quantity used to characterize the performance of a device, system or method, relative to its alternatives [51]. Prior to purchasing a new instrument, some estimation can be made; true figures required an extended use and experience on a specific analytical system. It is always useful to accept suggestions from several sources of competence [50].

### 2.3.2 HOW TO SELECT THE PROPER TECHNIQUE

Laboratory managers must decide which technique is best suited for the analytical problems of their laboratory. A clear understanding of the analytical problem in the laboratory and the capabilities provided by the different techniques is necessary [52].

Important criteria for selecting an analytical technique include detection limits, analytical working range, sample throughput, cost, interferences, ease of use, operator skill levels and the availability of proven methodology [50, 52, 53 and 45].

The detection limits achievable for individual elements are important in determining the usefulness of an analytical technique for a given analytical problem. Without adequate detection limit capabilities, lengthy analyte concentration procedures may be required prior to analysis. Sample throughput is the number of samples that can be analyzed or elements that can be determined per unit of time [52].

The analytical working range can be viewed as the concentration range over which quantitative results can be obtained without having to recalibrate the system. Selecting a technique with an analytical working range (and detection limits) based on the expected analyte concentrations minimizes analysis times by allowing samples with varying analyte concentrations to be analyzed together. A wide analytical working range can also reduce sample handling requirements, minimizing potential errors [54].

XRF (PEDXRF and WDXRF), ICP-AES and ICP-MS are superior analytical techniques for multi-element analysis over a wide range of concentration for a great variety of samples. Every technique has its advantages and disadvantages, showed in table 2-2. Indeed, in every company it has many models for the same technique (i.e. (HR) ICP-MS), of course with different uses and prices, with advantages and disadvantages, which let the comparison tough.

| Criterion                         | ICP-AES<br>(or ICP-OES) | ICP-MS         | XRF<br>(PEDXRF and WDXRF)                             |
|-----------------------------------|-------------------------|----------------|-------------------------------------------------------|
| Detection Limit                   | sub ppb                 | sub ppt        | sub ppm                                               |
| Dynamic Range                     | high ppm range          | mid ppm range  | % range                                               |
| Analytical Capability             | multi-elements          | multi-elements | multi-elements                                        |
| Analytical Method                 | destructive             | destructive    | non-destructive                                       |
| Easy to Use                       | easy                    | difficult      | easy                                                  |
| Sample Throughput<br>(per sample) | 1-5 min                 | 1-4 min        | 10 min                                                |
| Semi-Quantitative<br>Analysis     | Yes, limit              | Yes            | Yes                                                   |
| Isotopic Analysis                 | No                      | Yes            | No                                                    |
| Operating Cost                    | high                    | very high      | low                                                   |
| Cost (per sample)                 | low                     | medium         | low                                                   |
| Initial Cost                      | high                    | very high      | medium - very high                                    |
| Element                           | about 70                | about 80       | about 70<br>WDXRF can detect more than<br>70 elements |

Table 2- 2: Comparison between XRF, ICP-AES and ICP-MS [50, 52, 49 and 46].

## 2.4 PHYTOREMEDIATION

Phytoremediation is a term applied to a group of technologies that use plants to reduce, remove, degrade, or immobilize environmental toxins (contaminants) from soil and water, with the aim of restoring area sites to a condition useable for private or public applications (Figure 2-18). Indeed, it used to remove or render harmless such environmental contaminants as heavy metals, trace elements, organic compounds, and radioactive compounds in soil or water. However, efforts have focused on use of plants to accelerate degradation of organic contaminants, usually in concert with root rhizosphere<sup>1</sup> microorganism, or remove hazardous heavy metals from soils or water [55].

<sup>1</sup> Rhizosphere: the soil zone that surrounds and is influenced by the roots of plants.

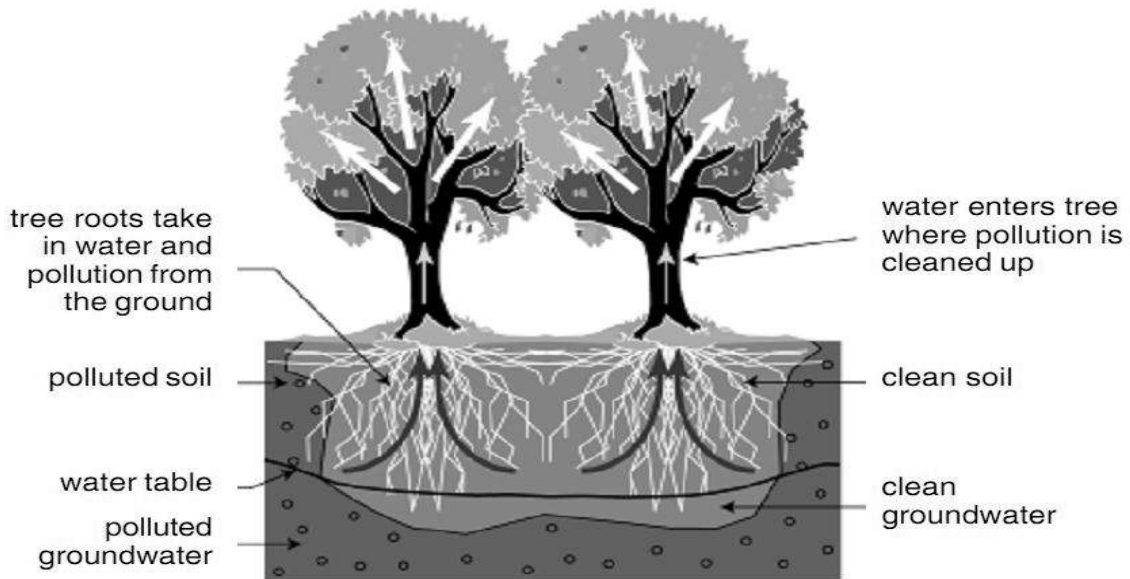


Figure 2- 18: Phytoremediation principle.

Phytoremediation of contaminated sites is appealing because it is relatively inexpensive and aesthetically pleasing to the public compared to alternate remediation strategies involving excavation/removal (Figure 2-19) or chemical in situ stabilization/conversion [55].



Figure 2- 19: Excavation of a site contaminated by metals, explosives, volatiles and semi-volatiles; soil before (left) and after (right) clean up.

Common remediation strategies used around the world to treat soil contaminated with toxic metals and or organic chemicals, are classified to three widely used strategies: 1) immobilization or retention of toxicants within a confined area, i.e. the soil at the site of their release or in contaminated soil placed in a landfill; 2) removal of contaminants from

the soil; 3) and destruction of organic pollutants by chemical, physical, or biological means. These strategies either individually or in combination with each other have been routinely implemented by the remediation industry to successfully treat contaminated soil [56]. Plants can provide an alternative to, for example, excavation, in the decontamination of soils with low levels of organic and inorganic substances. They provide an eco-friendly tool for decontamination but there are obstacles, such as how to dispose of contaminated plants, especially with radioactivity. Problems such as how to increase the biomass, and therefore the total uptake of pollutants, in the most efficient species have also to be addressed in the near future. It is known that certain families and species are more efficient than others in the uptake of selected pollutants [57].

Successful treatment of soils with mixed waste requires a combination of plant species with appropriate remediation properties, and also the inclusion of plant species hosting rhizosphere communities (bacteria and fungi) active against specific contaminants that are present [56].

Phytoremediation takes advantage of the unique and selective uptake capabilities of plant root systems, together with the translocation, bioaccumulation, and contaminant storage/degradation abilities of the entire plant body [58].

Phytoremediation is considered a clean, cost effective and non-environmentally disruptive technology, as opposed to mechanical cleanup methods such as soil excavation or pumping polluted groundwater [59]. Over the past 20 years, this technology has become increasingly popular and has been employed at sites with soils contaminated with lead, uranium, and arsenic. On the other hand, one major disadvantage of phytoremediation is that it requires a long-term commitment, as the process is dependent on plant growth, bioaccumulation capacity and tolerance to toxicity [60]. Phytoremediation works best at sites with low to medium amounts of pollution [61].

Plants grown for phytoremediation also can help keep harmful chemicals moving from a polluted site to other areas. The plants limit the amount of chemicals that can be carried away by the wind or by rain that soaks into the soil or flows off the site [61].

The time it takes to clean up a site using phytoremediation depends on several factors: 1) type and number of plants being used; 2) type and amounts of harmful chemicals present; 3) size and depth of the polluted area; 4) type of soil and conditions present. These factors vary from site to site. Plants may have to be replaced if they are destroyed by bad weather or animals; this adds time to the cleanup. Often it takes many years to clean up a site with phytoremediation [61].

Phytoremediation advantages: 1) the cost of the phytoremediation is lower than that of traditional processes in situ; 2) the plants can be easily monitored; 3) the possibility

of the recovery and re-use of valuable metals; 4) it is potentially the least harmful method because it uses naturally occurring organisms and preserves the environment in a more natural state [62]; 5) less equipment and labor than other methods since plants do most of the work; 6) trees and plants can make a site more attractive; 7) the site can be cleaned up without removing polluted soil or pumping polluted groundwater, this allows workers to avoid contact with harmful chemicals [61]. On the other hand, disadvantages are: 1) phytoremediation is limited to the surface area and depth occupied by the roots; 2) slow growth and low biomass require a long term commitment; 3) with plant based systems of remediation, it is not possible to completely prevent the leaching of contaminants into the ground water; 4) the survival of the plants is affected by the toxicity of the contaminated land and the general condition of the soil; 5) bio-accumulation of contaminants, especially metals, into the plants which then pass into the food chain, from primary level consumers upwards and/or requires the safe disposal of the affected plant material [62].

Use of native plant species for phytoremediation is generally favored; native require less maintenance and present fewer environmental and human risk than do non-native or genetically altered species. Non-native species that require fertilizers or large amounts of irrigation will contribute to, rather than reduce, native effects of stormwater runoff. Properly selected native plant communities are most tolerant of soils, climatic conditions, and seasonal cycles of inundation and drought [63].

Microbial populations and their level of activity are strongly influenced by soil pH levels and water availability. Most biological activity occurs in soils with pH levels between 5 and 10. Low pH levels are optimal for metal availability, but can have adverse effects on vegetation. Microbial activity is maximized when 60 percent of soil pore space is filled with water; activity is nearly absent with low water availability. Saturated soils have limited available oxygen, forcing a decline in microbial activity [64].

The physical characteristics of soil, such as percentages of clay and /or sand, can alter the availability of oxygen, nutrients, and water for plant and microbial use. Soils with high clay content, for example, have lower hydraulic conductivity and diffusion coefficients, and can render contaminants unavailable to microorganisms. The presence of vegetation can promote the development of soil structure, increase microbial activity within the rhizosphere, and, as a result, enhance the transport of water, nutrients, and contaminants through the soil system. Adding organic amendments, such as compost, to disturbed urban soils<sup>2</sup> can increase plant root growth, improve water holding capacity of the soil, and encourage a wide variety of soil organisms [64].

---

<sup>2</sup> Urban soils: Are any soils that occur in urban or industrial areas.

Main nutrients for the plants are nitrogen (N), phosphorus (P), potassium (K), calcium (Ca), magnesium (Mg), and sulfur (S). These major nutrients come from the soil; plants use large amounts for their growth and survival [65]. Arsenic (As) might be taken up by plants because it is similar to the plant nutrient phosphate. On the other hand, Cadmium (Cd) might be taken up by plants because it is similar to the plant nutrients Ca and Zn etc. [66].

Phytoremediation requires that the target metal must be (1) available to the plant root, (2) absorbed by the roots, and (3) translocated from the root to the shoot. The metal is removed from the site by harvesting the plant material. After harvesting, the biomass is processed to either recover the metal or further concentrate the metal to facilitate disposal [62].

Phytoremediation technologies are in the early stages of development, with laboratory research and limited field trials being conducted to determine processes and refine methods. Additional research, including genetic engineering, is being conducted to improve the natural capabilities of plants to perform remediation functions and to investigate other plants with potential phytoremediation applications [61]. Progress in phytoremediation is hindered by a lack of understanding of complex interactions in the rhizosphere and plant based interactions which allow metal translocation and accumulation in plants [67].

#### **2.4.1 DEFINITIONS OF TOLERANT, INDICATOR, AND HYPER-ACCUMULATOR**

A tolerant species is one that can grow on soil with concentrations of a particular element that are toxic to most other plants [68]. While both indicator species and hyper-accumulators are also tolerant. However, tolerant species are not necessarily indicators or hyper-accumulators, as tolerant non-accumulators can exclude metals from entering the root tissue [55].

Indicator plants have been employed in biogeochemical prospecting. This observation led others to associate the sites where these plants grew with soil containing. Examples include mosses, which have been recognized as bio-indicators of high metal concentrations in water, which is a recognized as Se indicator [55].

Hyper-accumulators take up particularly high amounts of a toxic substance, usually a metal or metalloid, in their shoots during normal growth and reproduction. The metal/metalloid concentration that must be accumulated by the plant before it is designated a hyper-accumulator depends upon the particular metal or metalloid in question. However, hyper-accumulators refers to the natural ability of certain plants describing a highly abnormal level of metal accumulation, even some metals that do not

appear to be required for plant functioning [69]. Hyper-accumulators are found in 45 different families, with the highest occurrence among the Brassicaceae. These plants are quite varied, from perennial shrubs and trees to small annual herbs [70]. Hyper-accumulation is often associated with plants with relatively slow growth rates [71].

#### 2.4.2 HOW DO PLANTS TAKE UP AND TRANSPORT METAL?

Soluble metals can enter into the root symplast by crossing the plasma membrane of the root endodermal cells or they can enter the root apoplast through the space between cells (figure 2-20 and 2-21). If the metal is translocated to aerial tissues, then it must enter the xylem. To enter the xylem, solutes must cross the casparian strip (figure 2-22), a waxy coating which is impermeable to solutes, unless they pass through the cells of the endodermis probably through the action of a membrane pump or channel. Once loaded into the xylem, the flow of the xylem sap will transport the metal to the leaves, where it must be loaded into the cells of the leaf, again crossing a membrane. Once in the shoot or leaf tissues, metals can be stored in various cell types, depending on the species and the form of the metal, since it can be converted into less toxic forms (to the plant) through chemical conversion. The metal can be sequestered in several subcellular compartments (cell wall, cytosol, and vacuole) or volatilized through the stomata (figure 2-23). The cell types where the metals are deposited vary between hyper-accumulator species. For example, *T. caerulescens* was found to have more Zn in its epidermis than in its mesophyll (figure 2-23), while *A. halleri* preferentially accumulates its Zn in its mesophyll cells instead of its epidermal cells [55].

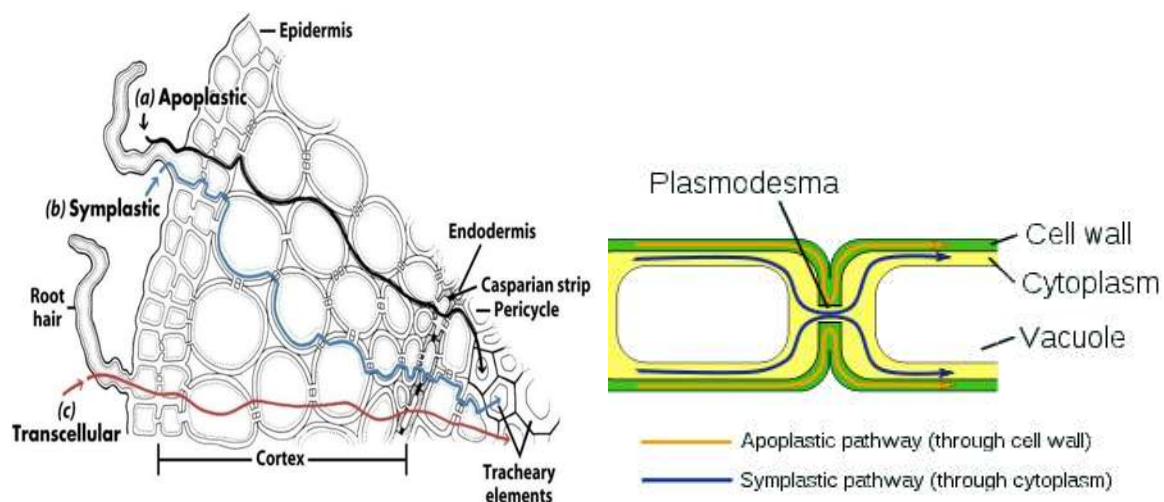


Figure 2- 20: Water paths inside the cells, different photos for apoplastic, symplastic and transcellular pathway.



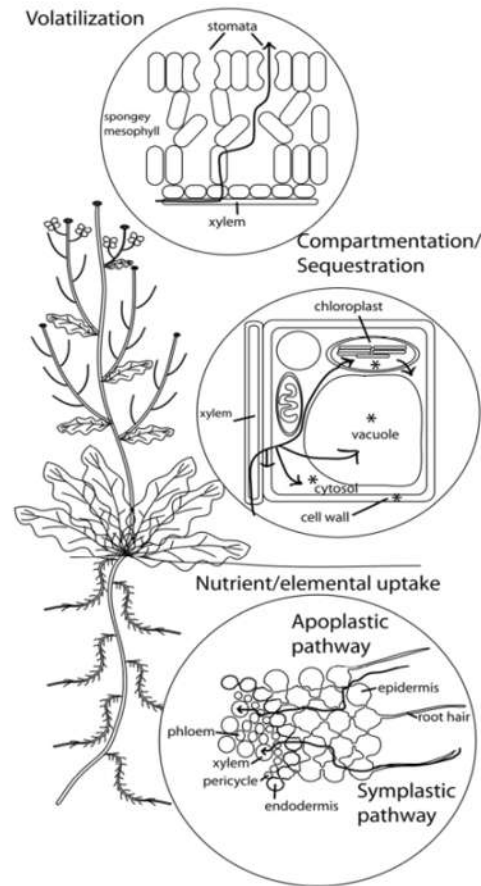


Figure 2- 21: Pathway of metal / nutrient uptake in plants.

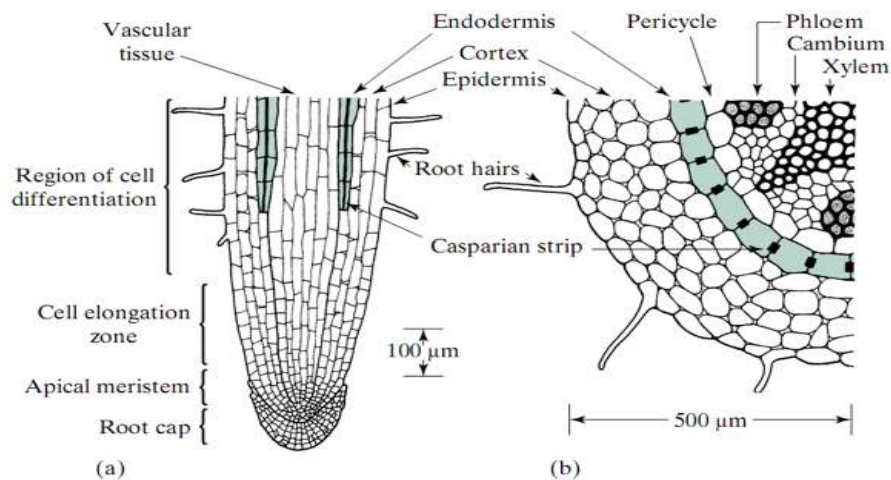


Figure 2- 22: Schematic diagrams of a young root: (a) longitudinal section, indicating the zones that can occur near the root tip; and (b) cross-sectional view approximately 10mm back from the tip, indicating the arrangement of the various cell types [68].

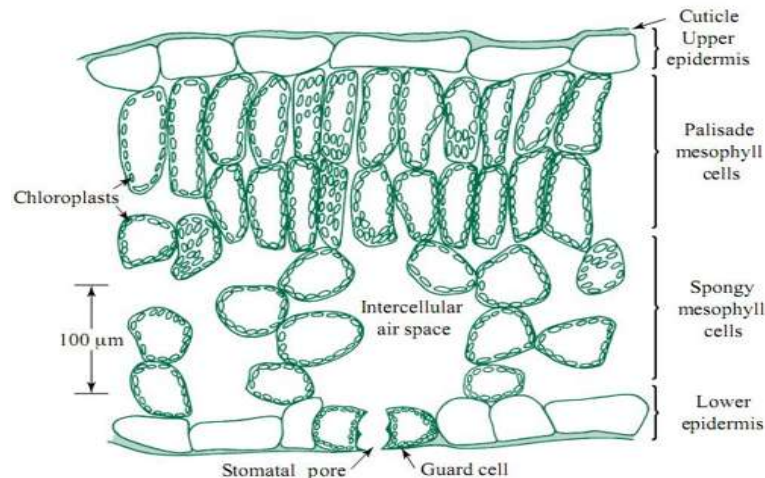


Figure 2- 23: Schematic transverse section through a leaf, indicating the arrangement of various cell types. Often about 30 to 40 mesophyll cells occur per stoma [68].

Once the chemicals inside the plants, chemicals can be: 1) stored in the roots, stems, or leaves; or 2) changed into less harmful chemicals within the plant; or 3) changed into gases that are released into the air as the plant transpires (breathes) [61].

Phytoremediation can occur even if the chemicals are not taken into the plant by the roots. For example, chemicals can stick or absorb to plant roots. Or they can be changed into less harmful chemicals by bugs or microbes that live near plant roots [61].

### 2.4.3 SOLUBILIZATION OF THE METAL FROM THE SOIL MATRIX

Many metals are found in soil insoluble forms. Plants use two methods to desorb metals from the soil matrix: acidification of the rhizosphere through the action of plasma membrane proton pumps and secretion of ligands capable of chelating<sup>3</sup> the metal. Plants have evolved these processes to liberate essential metals from the soil, but soils with high concentrations of toxic metals will release both essential and toxic metals to solution [55].

### 2.4.4 DETOXIFICATION / CHELATION

At any point along the pathway, the metal could be converted to a less toxic form through chemical conversion. Various oxidation states of toxic elements have very different uptake, transport, and sequestration or toxicity characteristics in plants. Chelation of toxins by endogenous plant compounds can have similar effects on all of these properties as well.

<sup>3</sup> Chelating: the combination of a metal ion with a chemical compound to form a ring, chelation is used in the industrial separation and extraction of metals and to treat metal poisoning.

As many chelators use thiol groups as ligands<sup>4</sup>, the sulfur (S) biosynthetic pathways have been shown to be critical for hyper-accumulator function and for possible phytoremediation strategies. Oxidative stress is one of the most common effects of heavy metal accumulation in plants, and the increased anti-oxidant capabilities of hyper-accumulators allow tolerance of higher concentrations of metals [55].

#### 2.4.5 SEQUESTRATION / VOLATILIZATION

The final step for the accumulation of most metals is the sequestration of the metal away from any cellular processes it might disrupt. Sequestration usually occurs in the plant vacuole (Figure 2.24), where the metal/metal-ligand must be transported across the vacuolar membrane. Metals may also remain in the cell wall instead of crossing the plasma membrane into the cell, as the negative charge sites on the cell walls may interact with polyvalent (or multivalence) cations. Selenium may also be volatilized through the stomata [55].

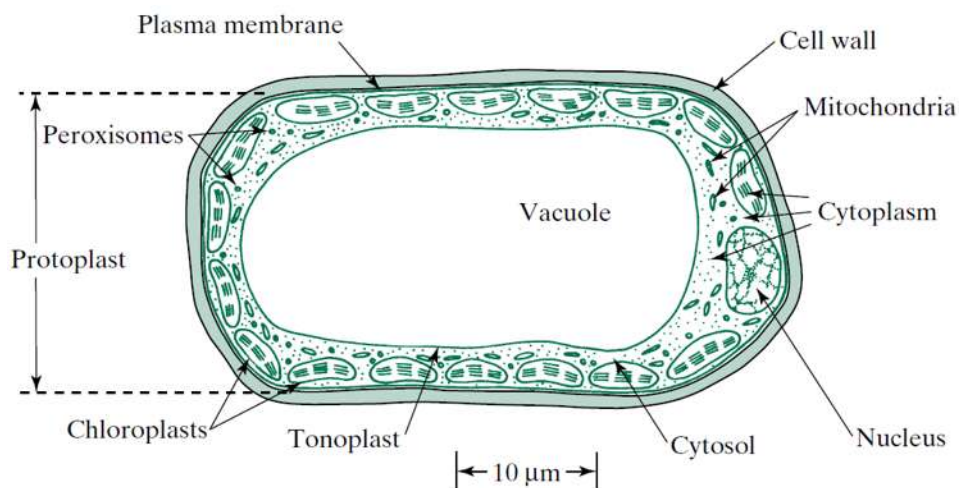


Figure 2- 24: Schematic representation of a mature mesophyll cell from the leaf of a flowering plant, suggesting some of the complexity resulting from the presence of many membrane surrounded sub-cellular compartments [68].

#### 2.4.6 PHYTOREMEDIATION APPLICATIONS

Phytoremediation applications can be classified based on the contaminant (metals, organics, and inorganic) fate: 1) degradation; 2) extraction by the plants; 3) containment within the plant / immobilization; 4) a combination of these mechanisms [72].

<sup>4</sup> Ligand is an ion or molecule that binds to a central metal atom to form a coordination complex. The bonding between metal and ligand generally involves formal donation of one or more of the ligand's electron pairs.

Plants actually need metals, such as zinc and copper, as well as nutrients, to grow. When soil surrounding plant root is deficient in essential elements, plants will exhibit symptoms indicative of deficiency (loss of leaf color, withering, dead spots, etc.) [71]; some plants, however, referred to as hyper-accumulators, make no distinction between heavy metals (such as cadmium or selenium) and those metals nutritionally necessary for growth, these plants absorb the metals through the root structure and store them in cell vacuoles (figure 2-24), where tissues have been measured to contain 1,000 to 10,000 ppm of various heavy metals [73 and 74].

#### **2.4.6.1 DEGRADATION**

Plants may enhance degradation in the rhizosphere. Microbial counts in rhizosphere soils can be 1 or 2 orders of magnitude greater than in non-rhizosphere soils; it is not known whether this is due to microbial or fungal symbiosis with the plant, plant exudates including enzymes, or other physical/chemical effects in the root zone [72].

Another possible mechanism for contaminant degradation is metabolism within the plant. Some plants may be able to take in toxic compounds and in the process of metabolizing the available nutrients, detoxify them. Trichloroethylene (TCE) is possibly degraded in poplar trees and the carbon used for tissue growth while the chloride is expelled through the roots [72].

#### **2.4.6.2 EXTRACTION**

Phytoextraction, or phytomining, is the process of planting a crop of a species that is known to accumulate contaminants in the shoots and leaves of the plants, and then harvesting the crop and removing the contaminant from the site. Unlike the destructive degradation mechanisms, this technique yields a mass of plant and contaminant (typically metals) that must be transported for disposal or recycling [72].

Rhizofiltration is similar to phytoextraction in that it is also a concentration technology. It differs from phytoextraction in that the mechanism is root accumulation and harvest using hydroponic growing techniques. This is useful for separating metal contaminants from water [72].

#### **2.4.6.3 CONTAINMENT AND IMMOBILIZATION**

Containment using plants bind the contaminants to the soil, render them non-bio-available, or immobilize them by removing the means of transport. Certain trees sequester large concentrations of metals in their roots, and although harvesting and removal is

difficult or impractical, the contaminants present a reduced human or environmental risk while they are bound in the roots. Risk reduction may also be achieved by transforming the contaminant into a form that is not hazardous, or by rendering the contaminant non-bio-available [72].

## CHAPTER 3: VALIDATION OF ANALYTICAL METHODS

### 3.1 INTRODUCTION

Validation method is the process by which it is established that performance characteristics of the method meet the requirements for the intended analytical applications. Methods need to be validated or revalidated before their introduction into routine use. All analytical methods that are intended to be used for analyzing any samples will need to be validated [75]. Parameters usually examined in the validation process are limits of detection, sensitivity, accuracy, precision etc. [76].

The objective of any analytical measurement is to obtain consistent, reliable and accurate data. Validated analytical methods play a major role in achieving this goal. Validation of analytical methods is also required for quality standards that impact laboratories [75].

The validity of a specific method should be demonstrated in laboratory experiments using samples or standards that are similar to unknown samples analyzed routinely. The preparation and execution should follow a validation protocol [9]. As scientists, we would want to apply good science to demonstrate that the analytical method used had demonstrated accuracy, sensitivity, specificity, and reproducibility [76]. All the objectives for this work depend on the standardization method for analyses the ferns, mosses, water, soil and sediment.

X-Ray Fluorescence (XRF) spectrometry is a common tool for highly accurate, precision, reproducible and non-destructive element analyses [77 and 21]; the method is sufficiently simple, precise, and fast to be used routinely for high resolution analyses. One of the most important advantages of Energy Dispersive X-Ray Fluorescence (EDXRF) spectrometry is the simultaneous analysis of elements from Na up to U; the primary radiation scattered at the sample is recorded simultaneously with the fluorescence signal. In practice, the sample is excited several times. The sensitivities and detection limits obtained with direct excitation could be improved up to an order of magnitude by using polarized radiation (PEDXRF). The phenomenon of polarization, first examined by Barkla, has been used and continuously improved since the beginning of the 70's [32].

The use of XRF techniques is extremely advantageous for the analysis of environmental and valuable samples because of the concurrence of three very important features: the capability to perform a completely non-destructive analysis; the possibility to

obtain results in much shorter time and at lower price compared to Instrumental Neutron Activation Analysis (INAA) [78].

All XRF instruments begin with the total counts received by the detector for an energy that is specific for each element. The detection limit, accuracy and precision of the measurement are directly determined by the magnitude of the total counts and resolution width of the peak. The total counts are expressed as intensity in counts per second [79].

The evaluation criteria are based on the performance characteristics for all the PEDXRF systems such as limit of detection, accuracy and the measurement uncertainty on one hand, and also the influence of the sample pretreatment on the obtained results on the other hand [80]. The other critical aspect of analytical precision is the ability to reproduce the same concentration values in many separate prepared samples.

PEDXRF spectrometer has many advantages in terms of: (1) simultaneous multi-element capability, (2) wider dynamic range, from parts per million (ppm) to 100%, (3) simple sample preparation procedure, (4) avoidance of poor recovery for certain elements during acid digestion, (5) easier machine operation, (6) higher sample throughput, (7) good reproducibility, (8) low operating costs. Because of these inherent advantages, XRF has been widely adapted for the analysis of major and trace elements [81 and 82].

Standard Reference Materials (SRM's) are controls or standards used to check the quality and traceability of products. A reference standard for a unit of measurement is an artifact that embodies the quantity of interest in a way that ties its value to the reference base for calibration. The importance of SRMs in quality assurance of measurements is widely accepted. SRMs are frequently used in analytical chemistry for calibration, verification and evaluation of both analytical methods and instruments [83]. The accuracy of quantitative XRF analysis is dependent on a set of calibration standards. Currently, many laboratories are using SRMs for both calibration and qualification standards.

The objective of this work is characterization of the accuracy factor and precision of the standard-less analysis routine TURBOQUANT® in the PEDXRF, for soil-ceramic SRMs in a He ambient in percent (%) concentration range. The manual of the PEDXRF equipment used in this work, the SPECTERO XEPOS III recommends that the weight for the sample should be 4g in sample cup diameter 24mm, but it's tough to offer that amount of the samples, further, if the smaller sample cups or pellets diameters produce nearly the same figure of merit, then smaller sample masses can be used.

### 3.1.1 THEORETICAL BASIS OF VALIDATION OF ANALYTICAL METHOD

The most important feature of XRF spectrometer used for analytical purpose or XRF analysis is the analytical sensitivity  $S_j$  for the  $j^{\text{th}}$  element in the sample matrix. The corresponding fluoresced x-ray beam energy is  $E_{ij}$  where  $i$  refer to the specific atomic level involved in the fluorescence (K, L, M ...). The higher the sensitivity the more accurate the XRF analysis.

The number of counts collected in the peak divided by the counting time is the count rate  $R_j$

$$R_j = S_j \cdot C_j \quad (3.1)$$

Where  $C_j$  is the concentration of the  $j^{\text{th}}$  element given as mass of the element divided by the mass of the sample.

$$R_j \propto N_{ij} \quad (3.2)$$

Where  $N_{ij}$  is the number of fluoresced photons coming from the  $i^{\text{th}}$  level of the element  $j$ .  $N_{ij}$  in turn depends on two factors, the fluoresce yield  $\omega_i$  of the  $i^{\text{th}}$  level and  $F(E_{ij})$  the x-ray photon attenuation factor

$$N_{ij} \propto \omega_i \cdot F(E_{ij}) \quad (3.3)$$

$$F(E_{ij}) = 1 - e^{-\frac{\mu_{ij}}{\rho} \times \rho \times d} \quad (3.4)$$

Where  $\frac{\mu_{ij}}{\rho}$  is the mass attenuation coefficient. For medium and heavy elements at the typical x-ray excitation energies i.e. the energy of the primary beam,  $\sim 50\text{keV}$ , the attenuation is largely by photoelectric absorption which results in the emission of a fluoresced x-ray. The  $\omega_i$  factors are highest for k-shell emissions and increase with  $Z_i$ .

By Moseley's law, the  $E_{ij}$  increase with increasing  $j$ .  $\rho$  is the sample density and  $d$  is the sample thickness eqn. (4) can be written as

$$F(E_{ij}) = 1 - e^{-\frac{\mu_{ij}}{\rho} \times \frac{m}{A \times d} \times d} \quad (3.5)$$

$m$  is the mass of the sample and  $A$  is the area of the sample face exposed to the beam of primary x-rays which is equivalent to the face from where the fluoresced x-rays exit towards the detector in typical reflective geometry instrument.  $\frac{m}{A} (g/cm^2)$  is called the areal density. All sample matrix effects arise from the term  $\frac{m}{A}$ .



Hence as far as the elements Z is concerned the photoelectric absorption and fluorescent yield increase with  $Z_j$ . For samples of the same areal density analytes of higher Z will display greater accuracy.

For an analyte of given  $Z_j$ . The matrix effects enter through the term  $\frac{m}{A}$ . For the same m sample, a higher A will result in lower  $F_{ij}$  for the primary beam and low self-absorption for the  $E_{ij}$  and decrease the count rate.

For the same A a higher mass  $F_{ij}$  increases for primary beam resulting in a higher count rate or higher accuracy. But by the same argument it will increase the self-absorption of  $E_{ij}$ . One technique of increasing m is to pelletize the samples. A technique for reducing A is to use sample cups of different diameters.

Objectives: (1) to determine and compare the accuracy factor and precision for different sample cup diameters (10, 15 and 24mm) and weights, with the same physical depth; (2) to determine and compare the accuracy factor and precision for different pellet diameters (10, 15, 25mm) and weights, with the same physical depth; (3) to determine and compare the accuracy factor and precision for different sample cup diameters (10, 15 and 24mm) and physical depths, with the same weight=0.5g; (4) to compare the accuracy factor and precision between different sample cup and pellet diameters; (5) determined the best accuracy factor and precision method for the future measurements in our laboratory.

### 3.2 MATERIALS AND METHODS

Standardization method for measuring heavy elements by PEDXRF is a very important for quality assurance for this work. Validation method for PEDXRF is done by two ceramic and soil SRMs, 98-a Plastic Clay (NIST, Maryland, USA) and GSS-1 (NRCC, Beijing, China) powders, differed in their intrinsic matrix properties of grain size, bulk and surface monolayer densities as well as the elemental concentrations.

Fixed dimensions sample cup or die diameter, fixed area, the depth will be dictated by the sample mass and the density by the type of sample preparation (powder or pellet). On the other words, the incident x-rays absorption will depend on sample area, depth, density and elemental composition of the sample; the flux of fluoresced x-rays reaching the detector will be governed by the extent of self-absorption by the sample which will depend on its depth and elemental composition, due to the interplay of all these factors, it perform targeted experiments to understand the limits of accuracy and precision in PEDXRF analysis using the specific instrument SPECTERO XEPOS III.

### 3.2.1 INSTRUMENTATION

PEDXRF spectrometry used in the present work (SPECTRO XEPOS III, Spectro Analytical Systems GmbH, Kleve, Germany) uses a Pd-target end window tube at a maximum power 50 W and a maximum voltage 50 kV to excite the samples [84]. The target changer, with up to 8 polarization and secondary targets, offers many different excitation conditions ensuring optimum determination of all elements from Na to U. Furthermore, 1mm<sup>2</sup> focal spot for the x-ray and 10mm<sup>2</sup> effective detection system, high-performance Si-Drift Detector (SDD) with Peltier cooling, working with -25 to -30 °C. Flushing (or purge) with helium to avoid loss of energy caused by scattering in air, this improves the sensitivity for light elements such as Na, Mg, Al and Si [77]. In addition, permits direct (standard-less) analysis through the fundamental parameters routine TURBOQUANT, whereby detector, sample matrix characteristics and background photon counts are automatically corrected [85]; SPECTRO XEPOS III details found in Appendix 1.

TURBOQUANT is the brand name for a SPECTRO method that is used for screening analysis. The method is able to analyze the elements from Na to U in completely unknown samples, all matrix effects which will occur are taken into account (User's manual SPECTRO XEPOS III); TURBOQUANT-powder and pellet used. The excitation of all the elements  $_{11}\text{Na}$ - $_{92}\text{U}$  is split into three single measurements using different targets; the light elements  $_{11}\text{Na}$ - $_{23}\text{V}$  are excited using a HOPG (Highly Oriented Pyrolytic Graphite) Bragg target; intense monochromatic polarized x-rays; the elements  $_{24}\text{Cr}$ - $_{40}\text{Zr}$  and  $_{59}\text{Pr}$ - $_{92}\text{U}$  are excited using a Mo secondary target; intense monochromatic non polarized x-rays; and high energy elements  $_{39}\text{Y}$ - $_{58}\text{Ce}$  are excited using Barkla  $\text{Al}_2\text{O}_3$  target; intense polychromatic polarized x-rays. Indeed, all elements from  $_{11}\text{Na}$  to  $_{58}\text{Ce}$ , K-lines are used, and for all elements from  $_{59}\text{Pr}$  to  $_{92}\text{U}$ , L-lines are used (User's manual SPECTRO XEPOS III); TURBOQUANT details found in Appendix 2.

### 3.2.2 SAMPLE PREPARATION

Two SRMs were chosen, ceramic 98a Plastic Clay and soil GSS-1. Details, concentrations and elements of the GSS-1 and 98a Plastic Clay are shown in table 3-1; on the other hand, physical soil properties taken onto account, mean particle size measured by laser particle analyzer (LS100Q Laser Particle Analyzer Beckman Coulter Corp., California, USA), mean particle size for GSS-1 =  $5.955 \pm 3.293\mu\text{m}$  and 98a Plastic Clay =  $12.980 \pm 3.387\mu\text{m}$ ; while, measured density for GSS-1 =  $1069.604 \pm 14.631\text{ kg/m}^3$  and 98a Plastic Clay =  $1208.105 \pm 40.406\text{ kg/m}^3$ . Particle sizes and heterogeneity may influence on the analyses results if not accounted when establishing the sample preparation routines. Sample preparation and particle size variance are major potential sources of error. Further,

particle size should be  $\leq 100\mu\text{m}$  as recommended from SPECTRO XEPOS III (User's manual SPECTRO XEPOS III).

| Element | 98a Plastic Clay<br>Concentration<br>% | GSS-1<br>Concentration<br>% |
|---------|----------------------------------------|-----------------------------|
| Na      | $0.0608 \pm 0.0016$                    | $1.2315 \pm 0.0297$         |
| Mg      | $0.2533 \pm 0.0043$                    | $1.0915 \pm 0.0482$         |
| Al      | $17.5658 \pm 0.0566$                   | $7.5048 \pm 0.0741$         |
| Si      | $22.8760 \pm 0.0231$                   | $29.2611 \pm 0.0654$        |
| P       | $0.0480 \pm 0.0025$                    | -                           |
| K       | $0.8634 \pm 0.0457$                    | $2.1501 \pm 0.0332$         |
| Ca      | $0.2216 \pm 0.0000$                    | $1.2293 \pm 0.0429$         |
| Ti      | $0.9651 \pm 0.0213$                    | -                           |
| Cr      | $0.0205 \pm 0.0048$                    | -                           |
| Fe      | $0.9372 \pm 0.0271$                    | $3.6300 \pm 0.0629$         |
| Sr      | $0.0330 \pm 0.0024$                    | -                           |
| Ba      | $0.0269 \pm 0.0006$                    | -                           |

Table 3- 1: SRMs concentrations for elements.

Humidity will reduce the x-ray absorption (scatter will increase) in the sample surface and increase the signal [86]. GSS-1 and 98a Plastic Clay dried in the oven for at least 24h at 60 °C before the measurements.

Different geometry sample cups (figure 3-1) and dies (figure 3-2 and 3-3) diameters used on this experiment; sample cup 24mm (SPECTRO XEPOS III), 15mm and 10mm (Chemplex Industries, Inc.); on the other hand, dies diameters 25, 15 and 10mm used; physical depth and pellet diameter measurements done by digital vernier caliper.

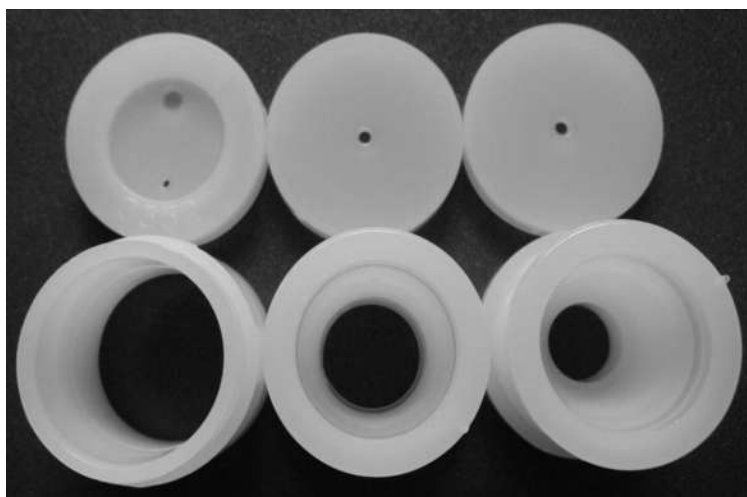


Figure 3- 1: Different sample cup diameters 24, 15 and 10mm.



Figure 3- 2: Different die diameters 10, 15 and 25mm.



Figure 3- 3: Different pellet diameters 25, 15 and 10mm.

After capped sample cups (pellets not capped) the samples were arranged on a 12-position rotating tray, which then inserted into the measuring chamber of the SPECTRO XEPOS III. Prolene film 4 $\mu$ m used as the sample x-ray window; in PEDXRF analysis, the samples were irradiated and analyses by TURBOQUANT-powder or pellet. Every sample needs 23min for a complete measurement.

Pelletizing is necessary for defensible quantitative chemical analyses for low atomic number elements. If there is interest in light elements like Na-S, the samples must be prepared as pellets. This avoids surface effects, which have a high influence on the determination of light elements [87]. In fact, higher density of the pellets for light elements (Na-S), whose x-rays (photoelectric) absorption cross sections are low, are likely to give better accuracy and precision.

A pressed pellet should basically fulfill the following quality for PEDXRF: (1) It must be homogeneous; (2) the pellet must be absolutely solid as loose particles pollute the x-ray tube; (3) the pellet should be stable (and storable); (4) fine surface; (5) fine grain, small particle size  $\leq 100\mu\text{m}$ ; (6) compact and flat. The advantage to adding binding agent makes the pellet: (1) surface indelible; (2) not hygroscopic (for storage); (3) stabilize the pellet.

Pellet and sample cup weight 4g with diameter 25 and 24mm taken as standard; physical depth and diameter are measured and the density calculated for pellet 25mm; and physical depth for the sample cup 24mm measured; physical depth and density for pellet diameter 25mm, and physical depth for sample cup diameter 24mm taken as reference to the other pellets and sample cups with different diameters. Pellet with wax it done by followed the user's manual SPECTRO XEPOS III, 4g sample plus 0.9g from wax (Hoechst, Germany); Pellets done by used Hydraulic Press (TRUPER, model is PREH-20, Mexico).

All the pellets done with the same pressure (force/area) =  $207.2 \times 10^6 \text{ N/m}^2$ . Indeed, pellets were have an approximately the same density; average density for GSS-1 with different pellets diameters (25, 15 and 10mm), without wax =  $2.071 \times 10^{-3} \pm 1.404 \times 10^{-5} \text{ g/mm}^3$ , with wax (25mm) =  $1.827 \times 10^{-3} \pm 6.519 \times 10^{-6} \text{ g/mm}^3$ , and 98a Plastic Clay for different pellet diameters (25, 15 and 10mm) =  $1.985 \times 10^{-3} \pm 8.102 \times 10^{-6} \text{ g/mm}^3$ ; wax decreased the density, and increased the physical depth to the pellet; further, wax consist of very low density materials. The die diameters chosen to be the same as sample cups diameters.

Powder with particle sizes less than  $100\mu\text{m}$  pressed with load 10.4, 3.74 and 1.66 ton for 60 seconds, respectively, die diameters 25, 15 and 10mm. The major problem arises from the preparation of pressed pellets, its time consuming.

Accuracy and precision of the PEDXRF instrument were assessed by calibration; calibration done as it's recommended from SPECTRO XEPOS III. Accuracy estimated by comparing our results to the given values of SRMs samples; while, precision is the ability of a measurement to be consistently reproduced. The development of PEDXRF also makes it possible to achieve high accuracy and precision analysis [87].

$$\text{Accuracy Factor (\%)} = \frac{\text{Experimental Concentration}}{\text{SRM}_{\text{concentration}}} \times 100\%$$

$$\text{Precision (\%)} = 100 - \text{Coefficient of Variation} = 100 - \frac{\text{SD}_{\text{experimental concentration}}}{\text{Experimental Concentration}} \times 100\%$$

### 3.3 EXPERIMENT PROCEDURE

First part of this experiment is to achieve the same physical depth in each sample cup diameters 24, 15 and 10mm with different weights; its recommended from SPECTRO XEPOS III the weight should be 4g with sample cup diameter 24mm; however, sample cup diameter 24mm with weight 4g is our standard for physical depth; details shown in table 3-2. The second part, to achieve the same weight = 0.5g with different sample cup diameters 24, 15 and 10mm and physical depth, shown in table 3-3. Third part, the same physical depth (without wax) with different weights and die diameters 25, 15 and 10mm; and one pellet 25mm with wax (GSS-1), it had different physical depth, shown in table 3-4.

| Sample Cup Diameter<br>mm | Mass<br>g | Physical Depth<br>mm |
|---------------------------|-----------|----------------------|
| <b>GSS-1</b>              |           |                      |
| 10                        | 0.9730    | 7.4260 ± 0.0859      |
| 15                        | 1.8275    | 7.2600 ± 0.2095      |
| 24                        | 4.0002    | 7.3180 ± 0.2447      |
| <b>98a Plastic Clay</b>   |           |                      |
| 10                        | 0.9067    | 8.3460 ± 0.1356      |
| 15                        | 1.7430    | 8.2660 ± 0.2277      |
| 24                        | 4.0002    | 8.2780 ± 0.1132      |

Table 3- 2: Sample cup diameters details; the same physical depth with different weights and diameters, for GSS-1 and 98a Plastic Clay.

| Sample Cup Diameter<br>mm | Mass<br>g | Physical Depth<br>mm |
|---------------------------|-----------|----------------------|
| <b>GSS-1</b>              |           |                      |
| 10                        | 0.5000    | 4.1460 ± 0.1827      |
| 15                        | 0.5005    | 1.7780 ± 0.0855      |
| 24                        | 0.5003    | 0.9520 ± 0.1537      |
| <b>98a Plastic Clay</b>   |           |                      |
| 10                        | 0.5005    | 4.9620 ± 0.1356      |
| 15                        | 0.4997    | 2.1120 ± 0.1563      |
| 24                        | 0.4998    | 1.1620 ± 0.2043      |

Table 3- 3: Sample cup diameters details; the same weight=0.5g with different physical depth and diameters, for GSS-1 and 98a Plastic Clay.

| Die Diameter<br>mm      | Mass<br>g                                         | Physical Depth<br>mm | Density<br>g/mm <sup>3</sup>                        |
|-------------------------|---------------------------------------------------|----------------------|-----------------------------------------------------|
| <b>GSS-1</b>            |                                                   |                      |                                                     |
| 10                      | 0.6514                                            | 3.9620 ± 0.0110      | $2.0934 \times 10^{-03} \pm 6.2256 \times 10^{-06}$ |
| 15                      | 1.4331                                            | 3.9060 ± 0.0397      | $2.0635 \times 10^{-03} \pm 2.1019 \times 10^{-05}$ |
| 25                      | 4.0001                                            | 3.9100 ± 0.0283      | $2.0548 \times 10^{-03} \pm 1.4867 \times 10^{-05}$ |
| 25 with wax             | (GSS-1= 3.9994g) +<br>(wax = 0.9005g) =<br>4.8999 | 5.3920 ± 0.0192      | $1.8272 \times 10^{-03} \pm 6.5192 \times 10^{-06}$ |
| <b>98a Plastic Clay</b> |                                                   |                      |                                                     |

|    |        |                     |                                                     |
|----|--------|---------------------|-----------------------------------------------------|
| 10 | 0.6520 | $4.1440 \pm 0.0055$ | $1.9755 \times 10^{-03} \pm 2.9905 \times 10^{-06}$ |
| 15 | 1.4341 | $4.0120 \pm 0.0179$ | $2.0088 \times 10^{-03} \pm 8.9653 \times 10^{-06}$ |
| 25 | 4.0004 | $4.0700 \pm 0.0255$ | $1.9707 \times 10^{-03} \pm 1.2352 \times 10^{-05}$ |

**Table 3- 4: Die diameters details; the same physical depth with different weights and diameters, for GSS-1 and 98a Plastic Clay.**

### 3.4 RESULTS AND DISCUSSION

First part of this experiment was done for different sample cup diameters and weights, with the same physical depth; average physical depth, for GSS-1=  $7.335 \pm 0.180$ mm and 98a Plastic Clay =  $8.297 \pm 0.159$ mm; physical depth depends on elementary composition and density for the SRMs; different sample cup diameters 24, 15 and 10mm used; Results shown in table 3-5, and figure 3-4 (GSS-1) and 3-5 (98a Plastic Clay). In TURBOQUANT-powder it's not recommended to analyses Na and Mg (User's manual SPECTRO XEPOS III); indeed, tables done by using three cases for the accuracy and precision; (1) with Na and Mg; (2) without Na and Mg (represent the most important part); (3) Na and Mg alone.

| Accuracy and Precision  | Sample Cup Diameter mm | Elements with Na and Mg % | Elements without Na and Mg % | Na and Mg alone %        |
|-------------------------|------------------------|---------------------------|------------------------------|--------------------------|
| <b>GSS-1</b>            |                        |                           |                              |                          |
| Accuracy                | 10                     | $91.11168 \pm 2.10395$    | $81.29817 \pm 1.36651$       | $115.64548 \pm 3.94756$  |
| Precision               | 10                     | 99.57729                  | 99.74198                     | 99.16556                 |
| Accuracy                | 15                     | $114.88789 \pm 2.77719$   | $104.70842 \pm 1.98082$      | $140.33656 \pm 4.76811$  |
| Precision               | 15                     | 99.20714                  | 99.30636                     | 98.95911                 |
| Accuracy                | 24                     | $119.52571 \pm 4.08139$   | $110.76992 \pm 1.86118$      | $141.4152 \pm 9.63191$   |
| Precision               | 24                     | 98.58469                  | 99.78639                     | 95.58044                 |
| <b>98a Plastic Clay</b> |                        |                           |                              |                          |
| Accuracy                | 10                     | $95.19877 \pm 7.32737$    | $73.5079 \pm 4.13494$        | $203.65308 \pm 23.28952$ |
| Precision               | 10                     | 97.57735                  | 99.00439                     | 90.44215                 |
| Accuracy                | 15                     | $130.95009 \pm 13.14779$  | $95.52455 \pm 5.60555$       | $308.0778 \pm 50.85900$  |
| Precision               | 15                     | 96.5562                   | 98.38319                     | 87.42126                 |
| Accuracy                | 24                     | $147.12204 \pm 9.64166$   | $106.58059 \pm 6.29499$      | $349.8293 \pm 26.37497$  |
| Precision               | 24                     | 97.81512                  | 98.71370                     | 93.32224                 |

**Table 3- 5: Comparison between different sample cup diameters and weights, with the same physical depth, for GSS-1 and 98a Plastic Clay.**

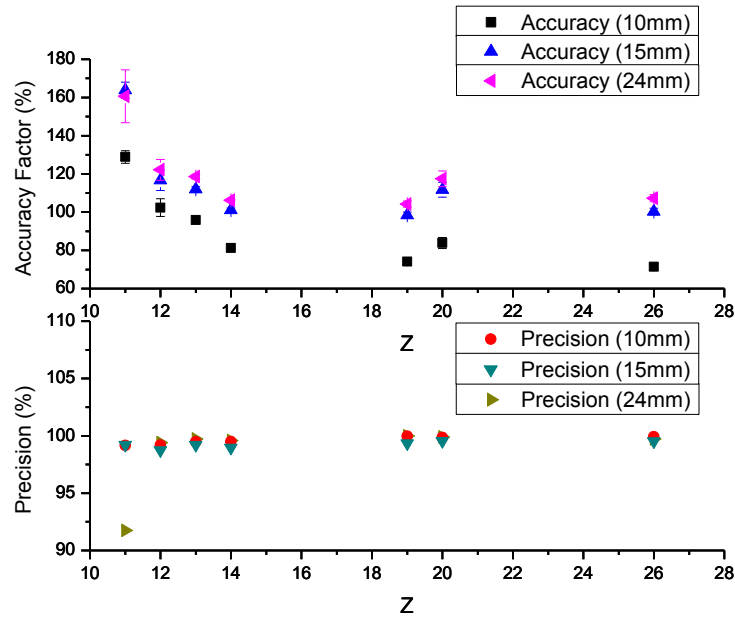


Figure 3- 4: Comparison between accuracy factor and precision versus Z for each element in GSS-1; the same physical depth for different sample cup diameters and weights.

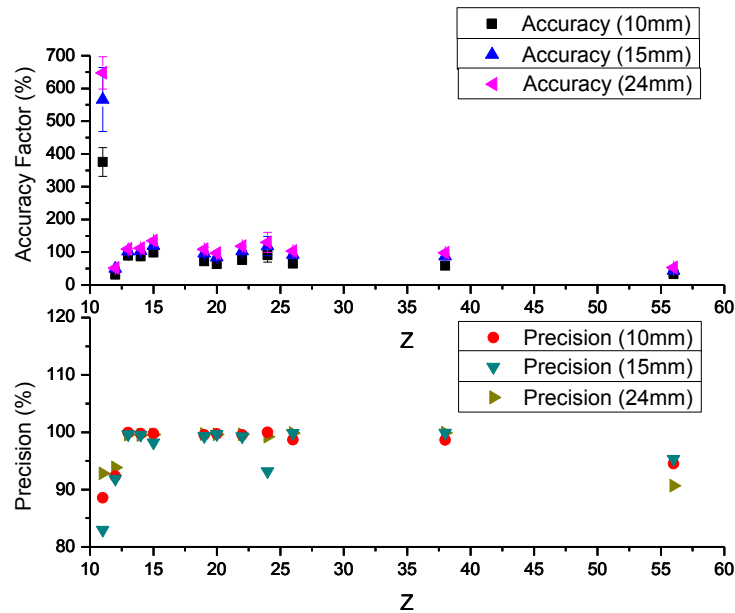


Figure 3- 5: Comparison between accuracy factor and precision versus Z for each element in 98a Plastic Clay; the same physical depth for different sample cup diameters and weights.

The precision for GSS-1 and 98a Plastic Clay were have small biases for all the sample cup diameters 24, 15 and 10mm; precision for all the analyzed samples bigger than



98%; the highest accuracy factor was for sample cup 15mm; accuracy factor for GSS-1 =  $104.70842 \pm 1.98082\%$  and 98a Plastic Clay =  $95.52455 \pm 5.60555\%$ ; on the other hand, the worst accuracy factor was for 10mm, accuracy factor for GSS-1 =  $81.29817 \pm 1.36651\%$  and 98a Plastic Clay =  $73.5079 \pm 4.13494\%$ ; sample cup 24mm, which is recommended from the SPECTRO XEPOS III have accuracy factor for GSS-1 =  $110.76992 \pm 1.86118\%$  and 98a Plastic Clay =  $106.58059 \pm 6.29499\%$ .

Second part of the experiment done for different sample cup diameters (24, 15 and 10mm) and physical depth, with the same weight = 0.5g; results shown in table 3-6 and figure 3-6 (GSS-1) and 3-7 (98a Plastic Clay).

| Accuracy and Precision  | Sample Cup Diameter mm | Elements with Na and Mg % | Elements without Na and Mg % | Na and Mg alone %        |
|-------------------------|------------------------|---------------------------|------------------------------|--------------------------|
| <b>GSS-1</b>            |                        |                           |                              |                          |
| Accuracy                | 10                     | $87.58950 \pm 2.76139$    | $75.19241 \pm 1.53255$       | $118.58221 \pm 5.83350$  |
| Precision               | 10                     | 98.18143                  | 98.8697                      | 96.46076                 |
| Accuracy                | 15                     | $117.95051 \pm 3.74543$   | $107.21626 \pm 2.29258$      | $144.78613 \pm 7.37755$  |
| Precision               | 15                     | 98.20524                  | 98.85694                     | 96.57598                 |
| Accuracy                | 24                     | $125.10590 \pm 3.52127$   | $116.2333 \pm 2.19846$       | $147.28741 \pm 6.82828$  |
| Precision               | 24                     | 98.92624                  | 99.42367                     | 97.68265                 |
| <b>98a Plastic Clay</b> |                        |                           |                              |                          |
| Accuracy                | 10                     | $105.01850 \pm 12.09792$  | $74.39742 \pm 4.47954$       | $258.12394 \pm 50.18983$ |
| Precision               | 10                     | 96.42473                  | 97.89651                     | 89.06582                 |
| Accuracy                | 15                     | $125.42376 \pm 10.05161$  | $100.50906 \pm 6.5547$       | $249.99723 \pm 27.53616$ |
| Precision               | 15                     | 95.94477                  | 96.97111                     | 90.81307                 |
| Accuracy                | 24                     | $170.69121 \pm 12.96539$  | $121.5424 \pm 7.09669$       | $416.43528 \pm 42.30890$ |
| Precision               | 24                     | 98.22477                  | 99.18317                     | 93.43276                 |

**Table 3- 6: Comparison between different sample cup diameters and physical depth, with the same weight = 0.5g; for GSS-1 and 98a Plastic Clay.**

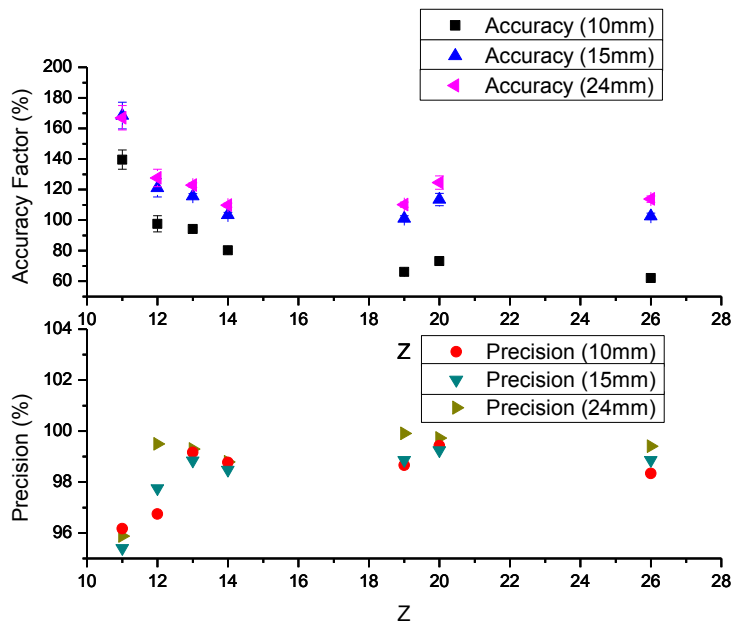


Figure 3- 6: Comparison between accuracy factor and precision versus Z for each element in GSS-1; the same weight = 0.5g, with different sample cup diameters and physical depth.

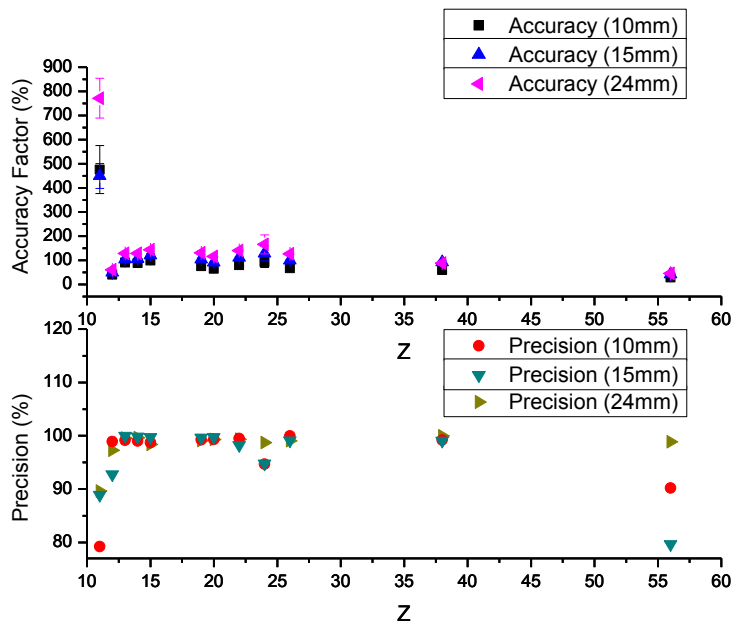


Figure 3- 7: Comparison between accuracy factor and precision versus Z for each element in 98a Plastic Clay; the same weight = 0.5g for different sample cup diameters and physical depth.

The precision for GSS-1 and 98a Plastic Clay were shown small biases for all the sample cup diameters 24, 15 and 10mm, precision for all the analyzed samples  $\geq 97\%$ ; the highest accuracy was for sample cup 15mm, accuracy factor for GSS-1 =  $107.21626 \pm$

2.29258% and 98a Plastic Clay =  $100.50906 \pm 6.55470\%$ ; on the other hand, the worst accuracy was for 10mm, accuracy factor for GSS-1 =  $75.19241 \pm 1.53255\%$  and 98a Plastic Clay =  $74.39742 \pm 4.47954\%$ ; the sample cup 24mm have accuracy factor for GSS-1 =  $116.23330 \pm 2.19846\%$  and 98a Plastic Clay =  $121.5424 \pm 7.09669\%$ . Sample cup 15mm had the best accuracy and precision even with low masses compare to other sample cups diameters 24 and 10mm.

First and second part from the experiment show small biases presented in sample cup diameters 15 and 24mm; and sample cup 10mm had the biggest biases. Details, in case GSS-1,  $^{20}\text{Ca}$  hadn't an excellent accuracy; indeed, interference could be happened because there is interference between the energy  $k_{\alpha 1}$  lines for  $^{19}\text{K}$  ( $k_{\alpha 1}=3,313.8\text{ev}$ ) and  $^{20}\text{Ca}$  ( $k_{\alpha 1}=3,691.68\text{ev}$ ) or maybe because the interference between energy  $k_{\alpha 1}$  and  $k_{\alpha 2}$  lines for  $^{20}\text{Ca}$  ( $k_{\alpha 1}=3,691.68\text{ev}$  and  $k_{\alpha 2} = 3,688.09\text{ev}$ ). On the other hand,  $^{11}\text{Na}$ ,  $^{12}\text{Mg}$  and  $^{13}\text{Al}$  haven't a good accuracy; any sample consists of low atomic number elements should be done as pellet not powder (User's manual SPECTRO XEPOS III).  $^{13}\text{Al}$  has a good accuracy but not an excellent; anyhow,  $^{13}\text{Al}$  can be analysis as powder with acceptable accuracy. In case for 98a Plastic Clay, it consists of more elements and complex matrix than GSS-1.  $^{56}\text{Ba}$ ,  $^{24}\text{Cr}$  and  $^{15}\text{P}$  have very low concentration in the 98a Plastic Clay,  $^{56}\text{Ba} = 0.0269 \pm 0.0006 \%$ ,  $^{24}\text{Cr} = 0.0205 \pm 0.0048 \%$  and  $^{15}\text{P} = 0.0480 \pm 0.0025\%$ , beside that  $^{15}\text{P}$  have low atomic number, necessarily pellet to give a good accuracy;  $^{22}\text{Ti}$  also had not a good accuracy and that because there is interference between  $^{22}\text{Ti}$  L-line energy with  $^{56}\text{Ba}$  K-line energy [88].

Sample cup diameter 24mm, has different geometric shaped than 15 and 10 mm (figure 3-1). Details, sample cup diameter 24mm has cylindrical shaped, while sample cup diameters 15 and 10mm are look likes cells integrate conically shaped interior sample chambers terminating into cylindrical tubes that mimic conventional funnels when viewed sideways. The sample cup apertures are governed by the diameters of the cylindrical tubes. Different geometric shapes for the sample cup diameters complicate the relevance between diameter and accuracy; most probably active area for the SDD detector ( $10\text{mm}^2$ ) relevance to the collected x-rays, suitable active area SDD detector should be proportional to the sample cup diameter. However, sample cup 10mm had the lowest accuracy, because the active area for the SSD detector has low intensity fluorescent x-rays reached; while, sample cup diameter 24mm has higher intensity that it should be.

Reduction for the weight improved the accuracy factor for complex matrix and high density like in 98a Plastic Clay by using sample cup diameter 15mm; whereas in simple matrix the reduction for weight was disadvantage; hence, matrix, density and weight affected on accuracy factor and precision.

Third part of the experiment done for different die diameters (25, 15 and 10mm) and weights, with the same physical depth; results shown in table 3-7 and figure 3-8 (GSS-1) and 3-9 (98a Plastic Clay).

| Accuracy and Precision  | Die Diameter mm  | Elements with Na and Mg % | Elements without Na and Mg % | Na and Mg alone %   |
|-------------------------|------------------|---------------------------|------------------------------|---------------------|
| <b>GSS-1</b>            |                  |                           |                              |                     |
| Accuracy                | 10               | 56.23998 ± 1.14817        | 64.51997 ± 1.05552           | 35.54001 ± 1.37979  |
| Precision               | 10               | 99.57593                  | 99.83811                     | 98.9205             |
| Accuracy                | 15               | 78.05716 ± 2.08558        | 91.46957 ± 2.26911           | 44.52615 ± 1.62677  |
| Precision               | 15               | 98.83465                  | 98.41331                     | 99.88799            |
| Accuracy                | 25 (without wax) | 92.29865 ± 2.05252        | 102.74908 ± 1.78452          | 66.17256 ± 2.72252  |
| Precision               | 25 (without wax) | 99.31264                  | 99.6841                      | 98.38401            |
| Accuracy                | 25 (with wax)    | 82.82649 ± 1.7643         | 92.70858 ± 1.61526           | 58.12127 ± 2.13691  |
| Precision               | 25 (with wax)    | 99.58669                  | 99.69668                     | 99.31171            |
| <b>98a Plastic Clay</b> |                  |                           |                              |                     |
| Accuracy                | 10               | 66.41925 ± 6.13009        | 61.59873 ± 3.73913           | 90.52182 ± 18.08489 |
| Precision               | 10               | 96.71406                  | 98.97351                     | 85.41683            |
| Accuracy                | 15               | 89.93792 ± 5.49509        | 92.46742 ± 5.80974           | 77.2904 ± 3.92186   |
| Precision               | 15               | 97.62560                  | 98.34462                     | 94.03047            |
| Accuracy                | 25               | 97.64976 ± 6.03950        | 100.35565 ± 5.92656          | 84.12034 ± 6.60420  |
| Precision               | 25               | 98.12361                  | 98.96392                     | 93.92209            |

Table 3- 7: Comparison between different die diameters and weights, with the same physical depth, for GSS-1 and 98a Plastic Clay.

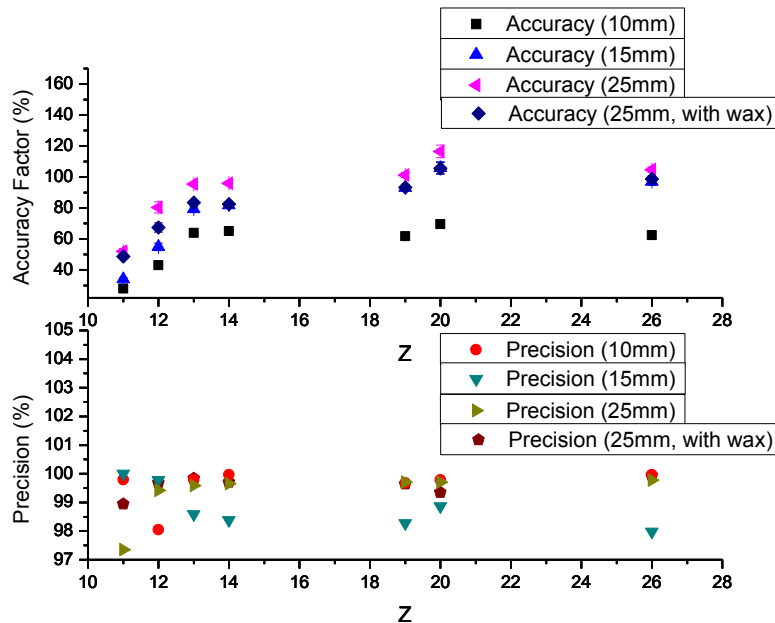


Figure 3- 8: Comparison between accuracy factor and precision versus Z for each element in GSS-1; the same physical depth for different die diameters and weights.

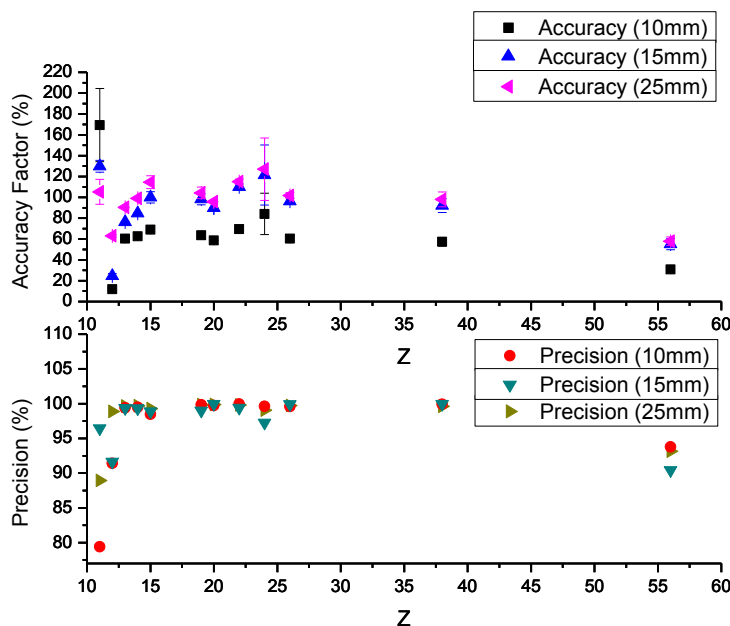


Figure 3- 9: Comparison between accuracy factor and precision versus Z for each element in 98a Plastic Clay; the same physical depth for different die diameters and weights.

The precision for GSS-1 and 98a Plastic Clay were shown small biases for all die diameters 25, 15 and 10mm, precision > 98%; the highest accuracy factor and precision was for die diameter 25mm; accuracy factor for GSS-1 without wax =  $102.74908 \pm 1.78452\%$ , GSS-1 with wax =  $92.70858 \pm 1.61526\%$  and 98a Plastic Clay =  $100.35565 \pm 5.92656\%$ ; on the other hand, the worst accuracy factor was for die diameter 10mm; accuracy factor for GSS-1 =  $64.51997 \pm 1.05552\%$  and 98a Plastic Clay =  $61.59873 \pm 3.73913\%$ ; the die diameter 15mm, has accuracy factor for GSS-1 =  $91.46957 \pm 2.26911\%$  and 98a Plastic Clay =  $92.46742 \pm 5.80974\%$ . Na and Mg had not a good accuracy factor, indeed, the low energy lines for  $K_{\alpha}$  (Na and Mg), beside self-absorption and complex matrix, all that effect on the final accuracy factor result.

Powder pressed pellet are expected to produce better accuracy factor and precision because of their defined shapes, higher densities and reduce surface effects. Pellet diameter 25mm without wax given the best accuracy factor and precision; details, accuracy and precision approximately 100%; pellet with wax has been given less accuracy factor than pellet without wax; further, low density for wax increased the scattered, thus, secondary x-ray scattered reduced the number of fluorescence x-ray reach to the detector; in addition, secondary x-ray scattered increased the noise, reduced the efficiency and sensitivity for the detector.

The volume of the sample from which x-rays are produced is known as the x-ray production volume or x-ray generation volume; the size and dimensions depends on the x-ray line being excited and the density of the material. The distribution of trajectories x-ray

is contained within the so called interaction volume; the shape and dimensions are strongly affected by both: the atomic number for the elements inside the sample and the incident energy of the x-ray.

Pellet volume effect on the absolute efficiency; absolute efficiency is product of geometric and intrinsic efficiency; geometric efficiency is solid angle that the detector present to the source; and intrinsic efficiency is the fraction of x-ray striking the detector volume that are detected. However, sample volume increase or decrease the intensity for fluorescence x-ray, thus, sensitivity for the detector affect by the sample volume; further, sample volume optimized the collection of x-rays. The distance between the sample volume and detector volume determines how much radiation will strike the detector, distance increased by increase the sample volume; indeed, sample volume should be proportional to the detector volume.

Absorption enhancement effects can be positive or negative on the basis of their effect upon analyte intensity. In the positive absorption effect, the matrix has a smaller absorption coefficient; the intensity is higher than predicted and maybe that what happen in case of sample cups (powder) for elements Na and Mg. In the negative absorption effect, the matrix has a larger absorption coefficient; the intensity is lower than expected, and maybe that what happen in case of pellets for elements Na and Mg. Thus, the physical depth, density, geometric shaped and sample volume can effect on the accuracy factor and precision.

### 3.5 CONCLUSIONS

The method of validation for PEDXRF were done by using two ceramic and soil Standard Reference Materials (SRMs), 98-a Plastic Clay (NIST, Maryland, USA) and GSS-1 (NRCG, Beijing, China) powders. PEDXRF have very high accuracy factor and precision; pellet diameter 25mm has produced the best accuracy factor and precision compared to other pellets and sample cup diameters. In fact, pellets has produced better accuracy factor and precision for low atomic number elements, i.e. Na and Mg. Sample cup diameter 15mm produced the best accuracy factor and precision compared to other sample cup diameters. In any laboratory, sample cup diameter 10mm is the norm for small mass amount (<0.1g), especially for environmental or biological samples. In general, sample cups (powder) are used in the laboratories more often than pellets. Making pellets are time consuming, besides, some samples need binder. However, sample cup 15mm (powder) has produced a better accuracy factor than pellet with wax.

A sample cup with a diameter of 15mm will need less mass than a pellet with a diameter of 25mm. A sample cup with a diameter of 15mm just needs 1.4g that is a lower

mass compared to 4g. Furthermore, the weight can be reduced up to 0.5g with very good accuracy factor and precision. Additionally, powder is easier to prepare and does not need any skills.

## **CHAPTER 4: TRACE ELEMENTS CHARACTERIZATION AND CONCENTRATION FOR RHIZOSPHERE SOIL, SEDIMENT AND WATER IN VENT OR /AND NEAR THE FUMARoles AND HOT SPRINGS IN LOS AZUFRES**

### **4.1 INTRODUCTION**

The region of Los Azufres is one of several Pleistocene silicic volcanic centres with active geothermal systems in the Mexican Volcanic Belt. The geothermal field, which is located 220 km NW of Mexico City and 80 km E of the Michoacán state capital Morelia has been used for geothermal energy and tourism. Los Azufres represents the second most important geothermal field in Mexico. A large number of natural hydrothermal features such as hot springs and fumaroles exist in the mountain area of Los Azufres.

Geothermal water can be broadly defined as ground water which has a temperature appreciably higher than that of the local average annual air temperature. Generally the geothermal water of an area contains large concentrations of dissolved minerals, such as sodium, calcium, sulphate, chloride, silica etc. higher than that of the local non geothermal ground water. The water warms as it descends, possibly along fault zones that overlie the magma chamber, until it absorbs enough heat to become lighter than overlying water; the warm water then rises to the surface (89, 90 and 91).

Geothermal fluids rising to the surface include both hot water and steam with dissolved solutes and gases. They may be discharged from hot springs, fumaroles and soil. The source of the dissolved constituents in the geothermal fluids is the rock with which the deep ground water has reacted and constituents present in the parent water. In the case of volcanic geothermal systems, the magma heat source may also supply chemical constituents to geothermal fluids through its degassing (89, 90 and 91).

Hot springs are created when water penetrates the earth's surface and encounters a geothermal heat source. The subsequent ascent of the heated water to ground level results in a hot spring with unusually high water temperatures and a high concentration of dissolved minerals. Sediment created by hot springs; often hot springs surrounded by strange and colorful mineral deposits. The deposition of the dissolved minerals is aided by the evaporation of the water, which usually many degrees warmer than stream runoff or unheated ground water [92]. Fumarole is a vent in the surface of the Earth from which hot smoke and gases escape. Fumaroles are found on or near volcanoes, especially in areas where volcanic activity is in its later stages [93 and 94].



Hot springs and fumaroles naturally discharges vapors and gases, mixed with dissolved minerals to the air and soil. Wind will spread these dissolved minerals, beside leakage from the gases and water to the surrounding soil; anyhow, metals transferred from the hot springs and fumaroles to the soil. This metal transference could come from natural sources, like geothermal and volcanic areas, which might affect the environment pH and might increase the absorption of elements in the soil.

Plants grow in the thin upper layer of the Earth's crust known as soil. Soil is formed over very long times from igneous or sedimentary rock, volcanic ash, sand or peat. With the exception of peat, these are all silicate minerals, so soil is largely made up of silicates and organic material known as humus. Plants use this soil for anchorage and as a source of nutrients and water [95].

Plants need water, carbon dioxide and a range of trace minerals known as nutrients to grow; plants uptake essential elements from the soil through their roots and from the air (mainly consisting of nitrogen and oxygen) through their leaves [96]. The nutrient available in a given soil ultimately depends on the rock from which the soil was made [95].

Adaptations are special features that allow a plant or animal to live in a particular place or habitat. These adaptations might make it very difficult for the plant to survive in a different place [97]. Plant over successive generations (normally through natural selection) has developed changes in its physical morphology to enable it to survive in a hostile or changing environment [98]. All plants have a way of adapting to their own environment. However, one type of the adaptation is the ability to live and uptake the heavy and rare metal inside plant biomass.

Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES) is one of the most common techniques for elemental analysis. ICP-AES is a powerful tool for quickly identifying and quantifying metals in a sample [99]; indeed, it's widely used analytical technique for the determination of trace elements [49]; its high specificity, multi-element capability and good detection limits result in the use of the technique in a large variety of applications [100]. In general, the main advantage of ICP-AES for the analysis of liquid samples is unique and versatile [101].

ICP-AES is one of the most powerful and popular analytical tools for the determination of trace elements in a myriad of sample types. The technique is based upon the spontaneous emission of photons from atoms and ions that have been excited in a RF discharge. Liquid and gas samples may be injected directly into the instrument, while solid samples require extraction or acid digestion so that the analytes will be present in a solution. The sample solution is converted to an aerosol and directed into the central channel of the plasma. At its core the Inductively Coupled Plasma (ICP) sustains a temperature of approximately 10,000 K, so the aerosol is quickly vaporized. Analyte elements are liberated as free atoms in the gaseous state. Further, collisional excitation

within the plasma imparts additional energy to the atoms, promoting them to excited states. Sufficient energy is often available to convert the atoms to ions and subsequently promote the ions to excited states. Both the atomic and ionic excited state species may then relax to the ground state via the emission of a photon. These photons have characteristic energies that are determined by the quantized energy level structure for the atoms or ions. Thus the wavelength of the photons can be used to identify the elements from which they originated. The total number of photons is directly proportional to the concentration of the originating element in the sample [102].

The instrumentation associated with an ICP-AES system is relatively simple. A portion of the photons emitted by the ICP is collected with a lens or a concave mirror. This focusing optic forms an image of the ICP on the entrance aperture of a wavelength selection device such as a monochromator. The particular wavelength exiting the monochromator is converted to an electrical signal by a photodetector. The signal is amplified and processed by the detector electronics, then displayed and stored by a personal computer [102].

EDXRF has the benefit of (in the most cases) easy sample preparation and multi-element analysis. When using a polarizing beam EDXRF equipped with secondary targets, additional benefits regarding low background and better excitation of heavy elements are obtained [103].

PEDXRF is nondestructive with rapid throughput and simple sample preparation, a broad range of elements from Na to U are characterized simultaneously, and sensitivity. Possible disadvantages are related to spectral interferences for certain elements and poorer sensitivity for lighter elements, with hazardous constituents of atomic number lower than Na such as Be not detected. However, recent developments in field-based EDXRF have potentially overcome many of these problems. High resolution Si(Li) detectors have improved energy resolution dramatically, thereby reducing spectral interferences. The development of personal computers with high speed and memory has also allowed fundamental parameter algorithms to be quickly performed using multiple standards, resulting in rapid and more accurate standardization and analyses for multicomponent, complex matrices over standard empirical methods [104].

PEDXRF spectrometry is a popular method for the direct determination of major and minor elements in mineralogical and environmental solid samples. With the use of this technique, the direct quantitation of metal species held in solid materials is possible, and therefore, the elution step can be avoided, leading to a reduction of sample handling [105].

The purpose of the study was to determine the chemical trace elements composition for the soil, sediment and water, and correlate the data with plant (mosses and ferns) in next chapter; if there are heavy and rare elements in the soil, sediment and water; the

plants likely to contain and accumulate these different elements at high concentrations in their biomass.

## **4.2 MATERIALS AND METHODS**

Precision and accuracy start with the sample collection and continue through each stage of the analysis until the chemical data are reported.

### **4.2.1 INSTRUMENTATION**

Two different techniques used to analyses trace elemental composition for the soil and sediment samples; while water samples from hot springs and Laguna Verde Lake analysis by one technique. First technique, PEDXRF used to analysis total concentration for soil and sediment samples. Second technique, ICP-AES used to analysis adsorbed (mobile elements) composition for soil and sediment samples, and total trace element concentration for liquid samples.

ICP-AES (or ICP-OES) is a fast multi-element solution technique with a dynamic linear range and moderate-low detection limits. The instrument Optima 8000 ICP-OES Spectrometer (PerkinElmer, Inc., Waltham, USA) uses an ICP source to dissociate the sample into its constituent atoms or ions, exciting them to a level where they emit light of a characteristic wavelength; ICP-AES measurements done in University of Texas, Texas, USA.

PEDXRF can be considered convenient for soil and sediment samples; accuracy and precision measured and described in chapter 3; SPECTRO XEPOS III (Spectro Analytical Systems GmbH, Kleve, Germany) used for the analysis the trace elemental composition; PEDXRF analysis done in University of Michoacán, Morelia, Mexico.

### **4.2.2 SAMPLING SITES**

Four sites located within the Los Azufres geothermal field, were selected to collect samples to determined elemental composition trace elements and concentrations. In this work the main interest were geothermal zones containing fumaroles. The chosen sites have been not used or change by human activity. The chosen sites are Nopalito I (figure 4-2), Cumbres I (figure 4-3), Cumbres II (figure 4-4) and Laguna Verde (figure 4-5); location for the sites on the map shown in figure 4-6, and map coordinates of the samples were measured with Mercator coordinates (XY), while Z is the altitude, summarized in Table 4-1. Soil (7 samples), sediment (6 samples) and water (5 samples) samples collected in

December 2010 and 2011, while one water sample taken in April 2010. A total samples collected is 18 samples.



Figure 4- 1: Nopalito I.



Figure 4- 2: Cumbres I.



Figure 4- 3: Cumbres II.





Figure 4- 4: Laguna Verde.

| Site Name    | X<br>m    | Y<br>m     | Z<br>m  |
|--------------|-----------|------------|---------|
| Cumbres I    | 323752.32 | 2192397.78 | 2788.84 |
| Cumbres II   | 324050    | 2192150    | 2788.84 |
| Nopalito I   | 322822.09 | 2192518.97 | 2756.94 |
| Laguna Verde | 327000    | 2193150    | 2820.42 |

Table 4- 1: Map coordinates.

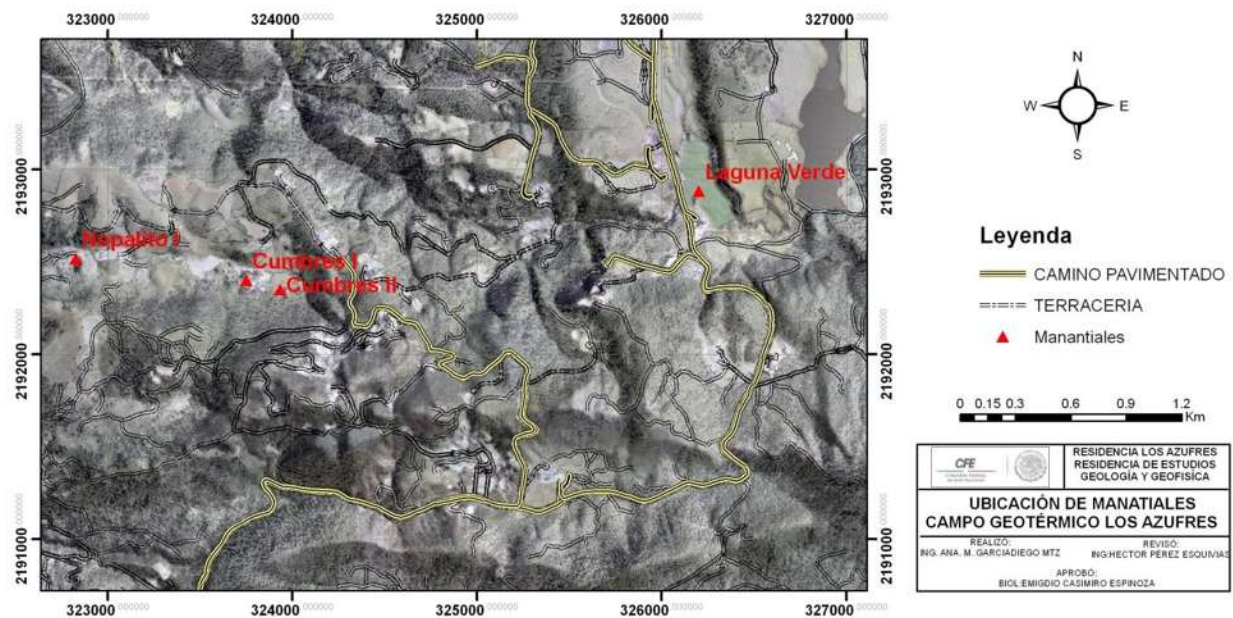


Figure 4- 5: Location for the four sites in Los Azufres.

### 4.2.3 SAMPLE PREPARATION

Soil samples were collected by shovel; the rhizosphere soil samples collected under and between roots for the plants. Soil sample name, plant type and plant name is summarized in table 4-2; whereas, sediment and water samples were carried out using a grab sampler; soil, sediment and water samples stored in clean, labeled and sealed polythene containers.

| Sample Name | Plant Type | Plant Name                                                                                                                                                                                                     | Note                              |
|-------------|------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|
| Soil 1      | Fern       | Pityrograma calomelanos PTERIDACEA                                                                                                                                                                             | Fumarole vent                     |
| Soil 2      | Fern       | Lycopodium clavatum L. LYCOPODIACEA                                                                                                                                                                            | ~50m far away from the hot spring |
| Soil 3      | Moss       | Atractylocarpus stenocarpus (Wilson) R.H. Zander DICRANACEAE<br>Pylaisidelpha tenuirostris (Bruch & Schimp. ex Sull.) W.R. Buck HYPNACEAE<br>Symblepharis vaginata (Hook. ex Harv.) Wijk & Margad. DICRANACEAE | Fumarole vent                     |
| Soil 4      | Moss       | Pilopogon guadalupensis (Brid.) J.-P. Frahm DICRANACEAE<br>Campylopus flexuosus (Hedw.) Brid. DICRANACEAE<br>Campylopus arctocarpus (Hornsch.) Mitt. DICRANACEAE                                               | ~70m far away from the hot spring |
| Soil 5      | Moss       | Pilopogon guadalupensis (Brid.) J.-P. Frahm DICRANACEAE                                                                                                                                                        | ~70m far away from the hot spring |
| Soil 6      |            | No Plant                                                                                                                                                                                                       | Rock Area                         |
| Soil 7      | Fern       | Lycopodium clavatum L. LYCOPODIACEA                                                                                                                                                                            | ~50m far away from the hot spring |

Table 4- 2: Plant names for each rhizosphere soil sample.

#### 4.2.3.1 SAMPLE PREPARATION FOR RHIZOSPHERE SOIL AND SEDIMENT

Water-sediment mixture collected from hot springs; separate procedure done by leave water-sediment mixture for 24h without move, and separate sediment and water by decanting the supernatant; sediment and soil samples cleaned of extraneous matter, i.e. stones, insects, root parts etc. and dried in the oven at 60 °C for 4-10 days.

Particle size or heterogeneity can causes serious problem in PEDXRF analysis, before chemical analysis, the samples should be homogenized. Soil and sediment samples were homogenized by grinding the samples by milling machine (RETSCH, Mixer Mill MM 400, Germany) with frequency =25 Hz, for 10-20min by using grinding jars 50ml and balls diameter 10mm made from stainless steel; indeed, in every grinding jar 14 balls. Grinded

dried samples were sieved through 140-mesh (particle size  $<105\ \mu\text{m}$ ); all the samples spent 24h in the oven at  $60\ ^\circ\text{C}$  before the analysis in PEDXRF, to insure no humidity.

The samples were prepared for PEDXRF in form of pressed powder pellet into 25mm internal diameter (figure 4-7 and 4-8), by using a hydraulic press operated at a load of 10.4 ton (TRUPER, PREH-20, Mexico). Pressed powder pellet without a binder eliminates sample dilution and, therefore, increases the sensitivity and lowers the detection limits for trace elements [103]; however, accuracy is lower in the powder sample than in the pressed pellet [77]; most of the soil and sediments samples done without binder, one sample done as pellet with binder (4g samples + 0.9g wax), the procedure done as it recommended from the SPECTERO XEPOS III (User's manual SPECTERO XEPOS III); density calculated for soil and sediment pellets; indeed, weight and depth measured; details for the site, date, density etc. illustrated in table 4-3 and 4-4. All the pellets done with the same pressure (force/area) =  $207.2 \times 10^6\ \text{N/m}^2$ . Pellets were arranged on a 12-position rotating tray, which was then inserted into the measuring chamber of the SPECTRO XEPOS III analyser.

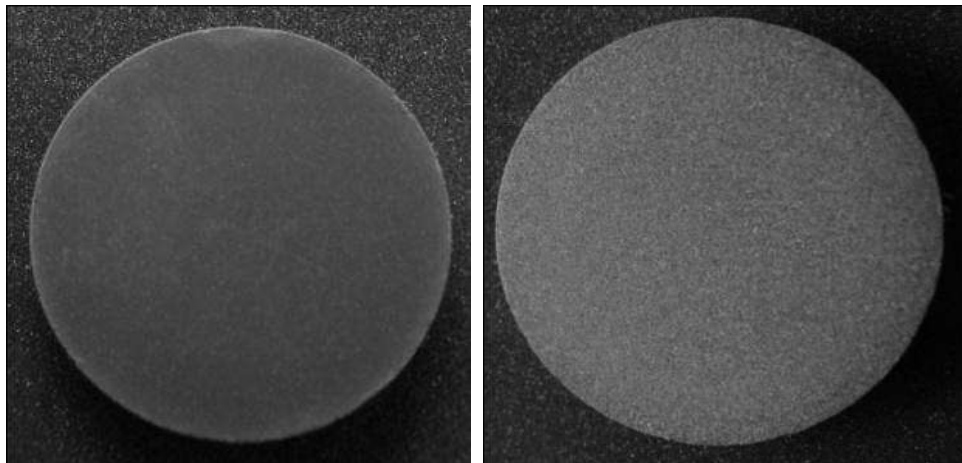


Figure 4- 6: Pellets for sediment samples 5 and 6.

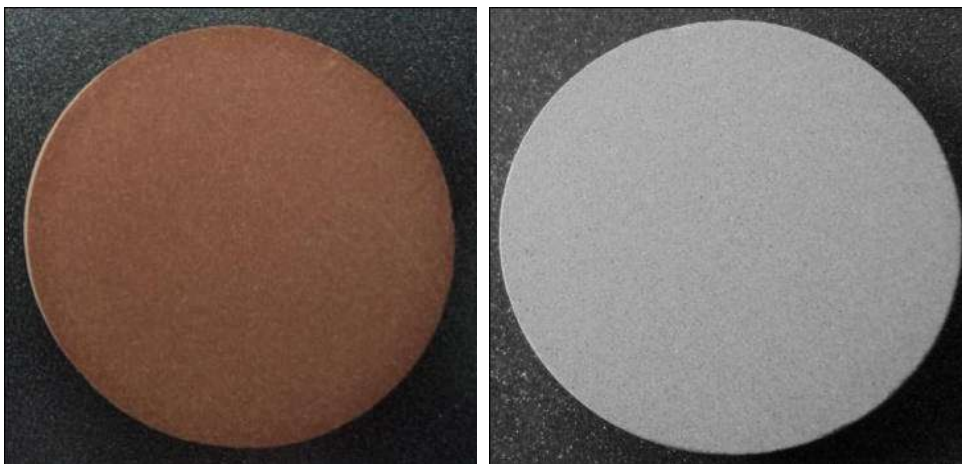


Figure 4- 7: Pellets for soil samples 6 and 7.

| Sample Name | Sampling Site | Date of Sampling |
|-------------|---------------|------------------|
| Soil 1      | Nopalito I    | 1/12/2011        |
| Soil 2      | Cumbres II    | 1/12/2011        |
| Soil 3      | Nopalito I    | 1/12/2011        |
| Soil 4      | Cumbres II    | 1/12/2011        |
| Soil 5      | Cumbres II    | 1/12/2011        |
| Soil 6      | Nopalito I    | 3/12/2010        |
| Soil 7      | Cumbres II    | 3/12/2010        |
| Sediment 1  | Nopalito I    | 1/12/2011        |
| Sediment 2  | Cumbres I     | 1/12/2011        |
| Sediment 3  | Nopalito I    | 3/12/2010        |
| Sediment 4  | Nopalito I    | 3/12/2010        |
| Sediment 5  | Cumbres II    | 3/12/2010        |
| Sediment 6  | Cumbres I     | 3/12/2010        |

Table 4- 3: Site and date of sampling for each soil and sediment sample.

| Sample Name | Sample Weight<br>g                                   | Physical Depth<br>mm               | Density<br>g/mm <sup>3</sup>                      |
|-------------|------------------------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------------------|
| Soil 1      | 4.0003                                               | $4.2480 \pm 8.3666 \times 10^{-3}$ | $1.8474 \times 10^{-3} \pm 3.6461 \times 10^{-6}$ |
| Soil 2      | (soil sample= 4.0002g) + (wax<br>= 0.9001g) = 4.9003 | $6.0560 \pm 1.1402 \times 10^{-2}$ | $1.6188 \times 10^{-3} \pm 3.0514 \times 10^{-6}$ |
| Soil 3      | 3.9995                                               | $4.1660 \pm 1.9494 \times 10^{-2}$ | $1.8914 \times 10^{-3} \pm 8.8514 \times 10^{-6}$ |
| Soil 4      | 4.0006                                               | $4.1760 \pm 2.9665 \times 10^{-2}$ | $1.8897 \times 10^{-3} \pm 1.3425 \times 10^{-5}$ |
| Soil 5      | 4.0007                                               | $5.4920 \pm 3.1145 \times 10^{-2}$ | $1.4313 \times 10^{-3} \pm 8.1195 \times 10^{-6}$ |
| Soil 6      | 4.0008                                               | $3.9600 \pm 2.4495 \times 10^{-2}$ | $2.0081 \times 10^{-3} \pm 1.2424 \times 10^{-5}$ |
| Soil 7      | 4.0006                                               | $4.8960 \pm 8.9443 \times 10^{-3}$ | $1.6202 \times 10^{-3} \pm 2.9660 \times 10^{-6}$ |
| Sediment 1  | 4.0008                                               | $3.8300 \pm 2.9155 \times 10^{-2}$ | $2.0589 \times 10^{-3} \pm 1.5675 \times 10^{-5}$ |
| Sediment 2  | 4.0007                                               | $4.2840 \pm 1.5166 \times 10^{-2}$ | $2.7060 \times 10^{-3} \pm 2.4217 \times 10^{-4}$ |
| Sediment 3  | 4.0012                                               | $3.8100 \pm 5.2440 \times 10^{-2}$ | $2.0837 \times 10^{-3} \pm 2.8682 \times 10^{-5}$ |
| Sediment 4  | 4.0005                                               | $3.8340 \pm 2.4083 \times 10^{-2}$ | $2.0599 \times 10^{-3} \pm 1.2940 \times 10^{-5}$ |
| Sediment 5  | 4.0013                                               | $4.0960 \pm 3.5777 \times 10^{-2}$ | $1.9312 \times 10^{-3} \pm 1.6872 \times 10^{-5}$ |
| Sediment 6  | 4.0000                                               | $4.3700 \pm 1.8708 \times 10^{-2}$ | $1.8053 \times 10^{-3} \pm 7.7304 \times 10^{-6}$ |

Table 4- 4: Weight, density and physical depth for each soil and sediment pellet.

The samples were sent to the University of Texas, USA in form of dried powder; the samples were analyzed by using ICP-AES. The digestion method followed is USEPA: method 3050B. Digestion methods time consuming and potentially hazardous acid treatments for sample dissolution.



#### 4.2.3.2 SAMPLE PREPARATION FOR WATER

Water samples centrifuged by using Laboratory Centrifuge (Solbat J-40, Puebla, Mexico), for 10min, r.p.m. 4500; centrifuged water samples filtered by filter paper; samples kept in the fridge, ready to use; water samples analyzed by ICP-AES in University of Texas, USA. One drop of concentrated  $\text{HNO}_3$  added to every water sample to insure all metals dissolved. Table 4-5 shows date of sampling and site name.

| Sample Name | Site Name    | Date of Sampling |
|-------------|--------------|------------------|
| 1W          | Cumbres I    | 3/12/2010        |
| 2W          | Nopalito I   | 3/12/2010        |
| 3W          | Cumbres II   | 3/12/2010        |
| 4W          | Cumbres II   | 3/12/2010        |
| 5W          | Laguna Verde | 15/4/10          |

Table 4- 5: Location and date of sampling for each water, soil and sediment sample.

#### 4.3 RESULTS AND DISCUSSION

The chemical trace elements found in the soil samples by using PEDXRF are: Na, Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, As, Se, Br, Rb, Sr, Y, Zr, Nb, Mo, Ag, Cd, Sn, Sb, Te, I, Ba, La, Ce, Pr, Nd, Hf, Ta, W, Hg, Pb, Th and U; whilst, in sediment samples found: Na, Mg Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, As, Se, Br, Rb, Sr, Y, Zr, Nb, Mo, Sn, Sb, Ba, La, Ce, Nd, Hf, W, Hg, Pb, Th and U. The number of the elements found in soil samples is 46 elements and in sediment samples 40 elements; the trace elements detected in soil samples and not detected on the sediment samples are: Ag, Cd, Te, I, Pr and Ta. However, in soil samples the trace elements were found in slightly higher concentration because the soil has been enriched from hot springs and natural decomposition for plants and animals. Trace element composition details with comparison between different locations for soil samples shown in figures 4-9 to 4-17, and for the sediment samples in figures 4-18 to 4-25; the elements arranged according to the elements concentrations. As stated, in chapter three Na and Mg had big error in the analysis by using PEDXRF, thus, Na and Mg results not on the graphs.

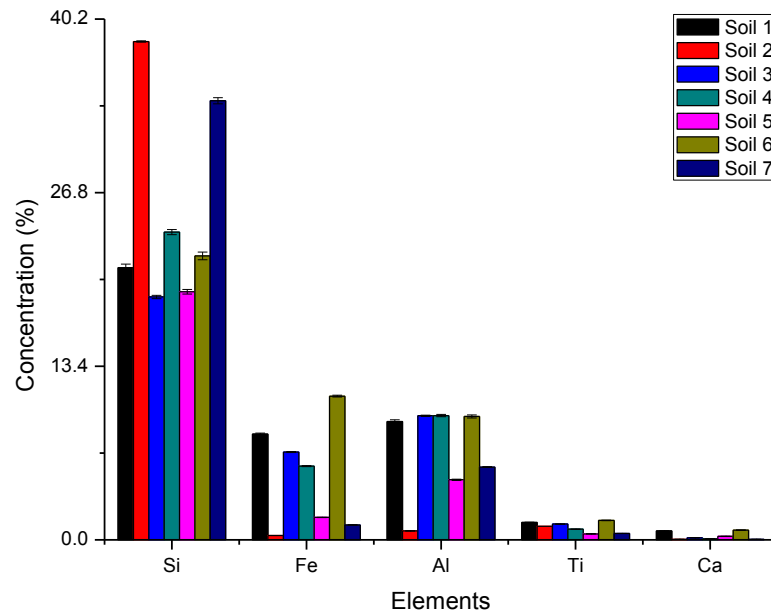


Figure 4- 8: Trace element comparison for different soil samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Si, Fe, Al, Ti and Ga.

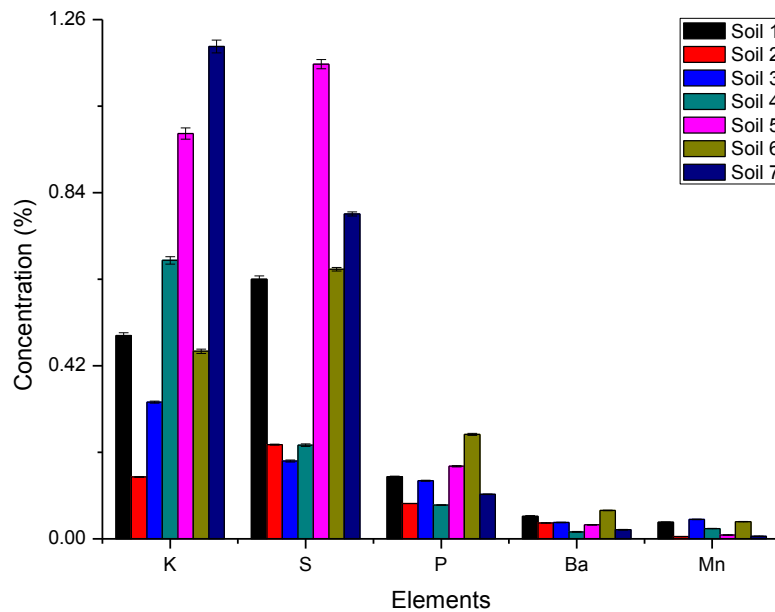


Figure 4- 9: Trace element comparison for different soil samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements K, S, P, Ba and Mn.

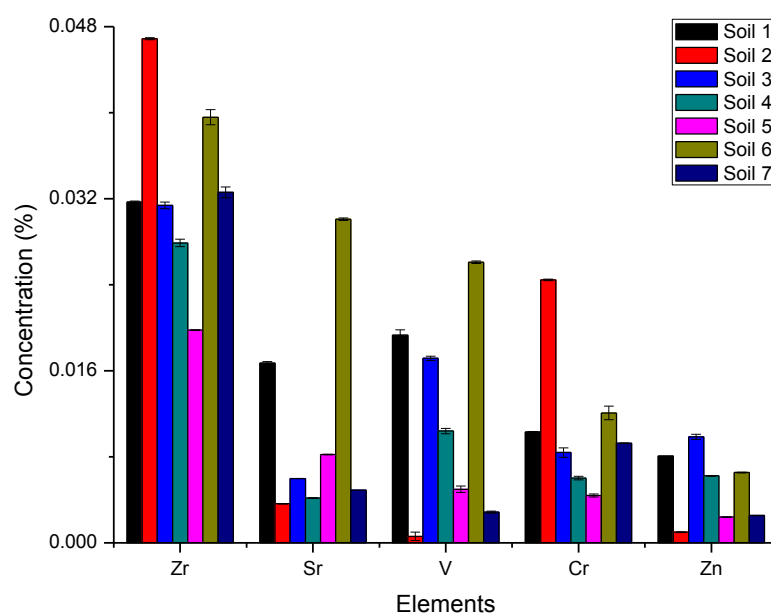


Figure 4- 10: Trace element comparison for different soil samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Zr, Sr, V, Cr and Zn.

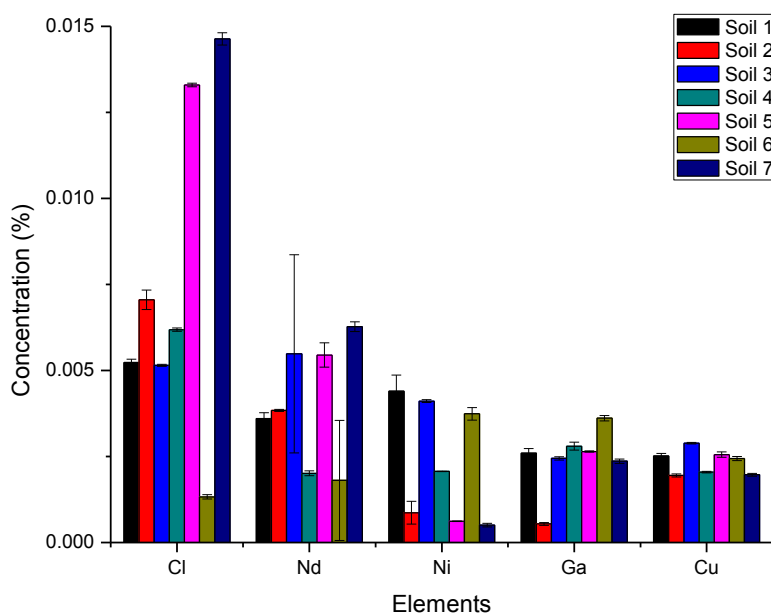


Figure 4- 11: Trace element comparison for different soil samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Cl, Nd, Ni, Ga and Cu.

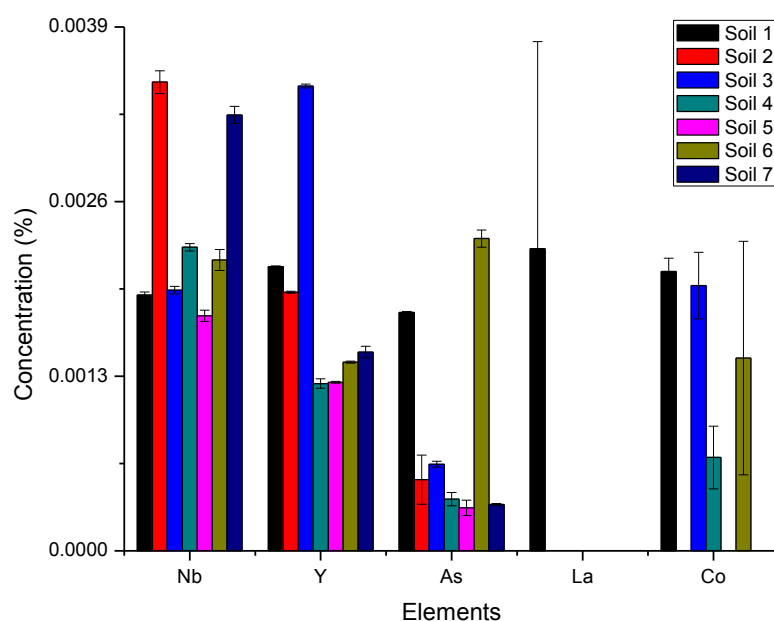


Figure 4- 12: Trace element comparison for different soil samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Nb, Y, As, La and Co.

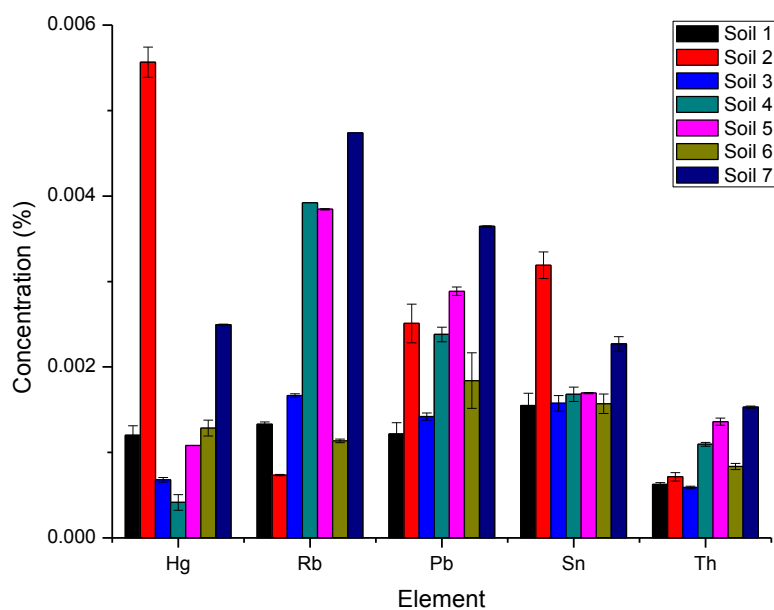


Figure 4- 13: Trace element comparison for different soil samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Hg, Rb, Pb, Sn and Th.

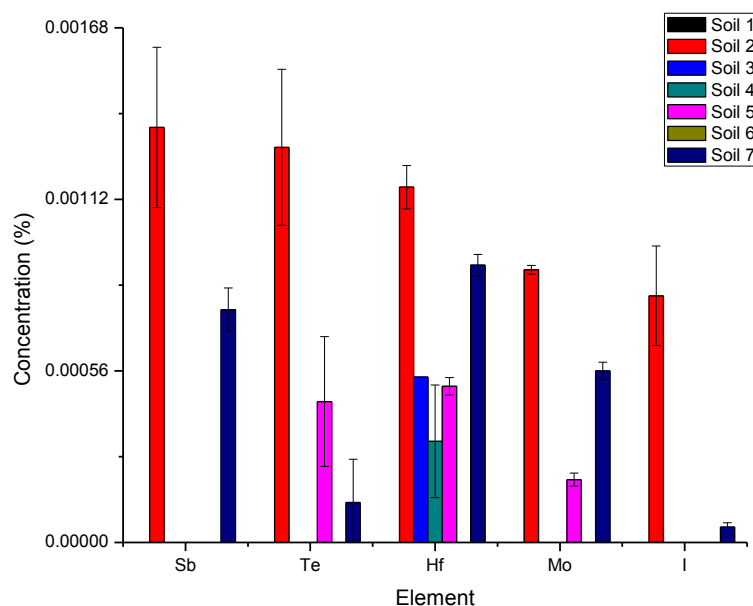


Figure 4- 14: Trace element comparison for different soil samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements sb, Te, Hf, Mo and I.

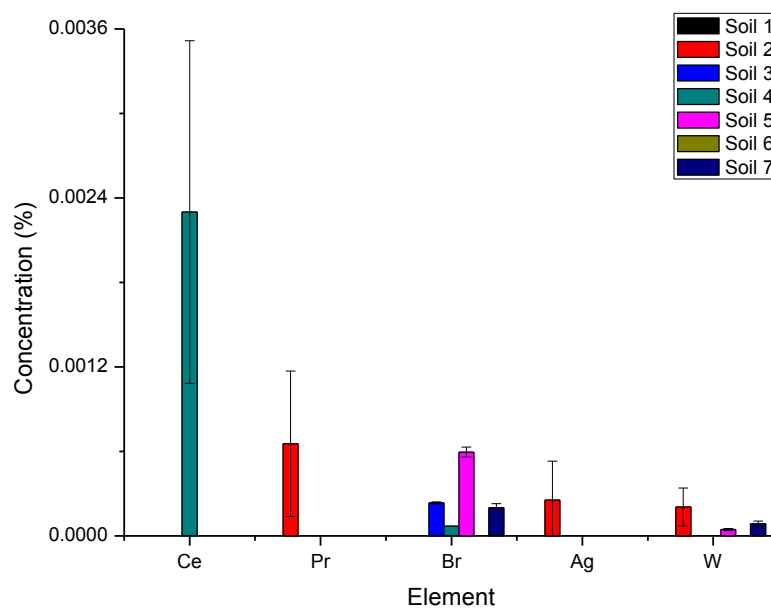


Figure 4- 15: Trace element comparison for different soil samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Ce, Pr, Br, Ag and W.

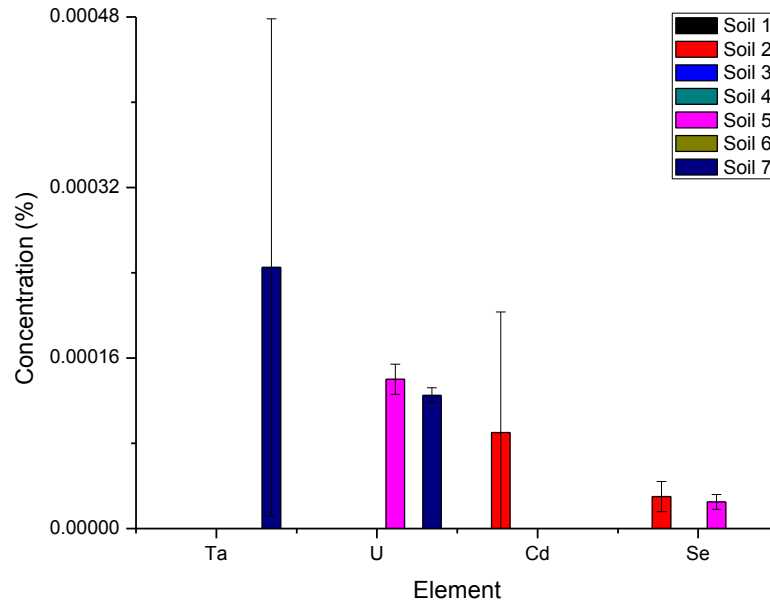


Figure 4- 16: Trace element comparison for different soil samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Ta, U, Cd and Se.

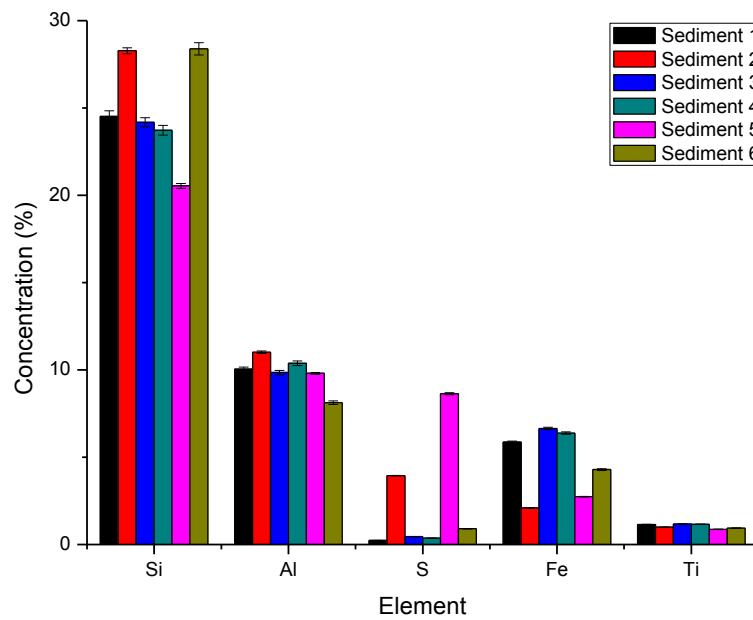


Figure 4- 17: Trace element comparison for different sediment samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Si, Al, S, Fe and Ti.

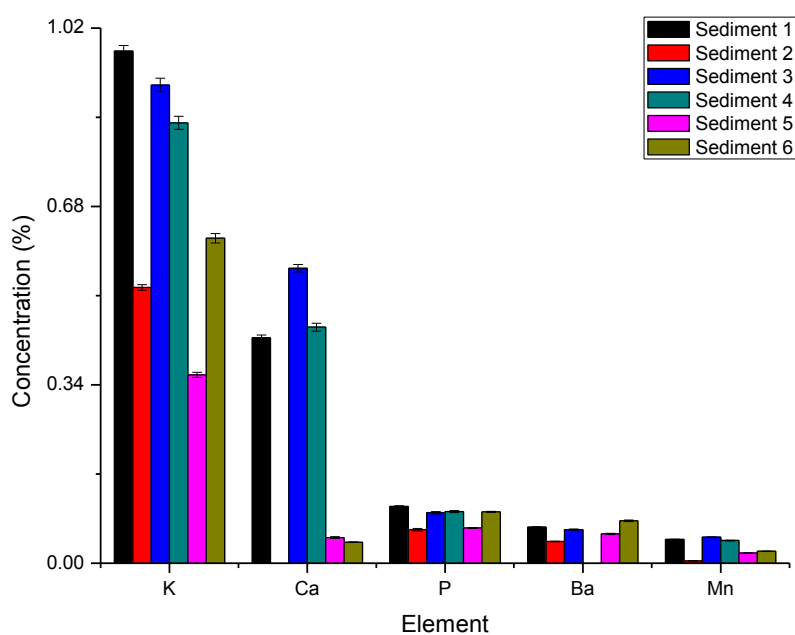


Figure 4- 18: Trace element comparison for different sediment samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements K, Ca, P, Ba and Mn.

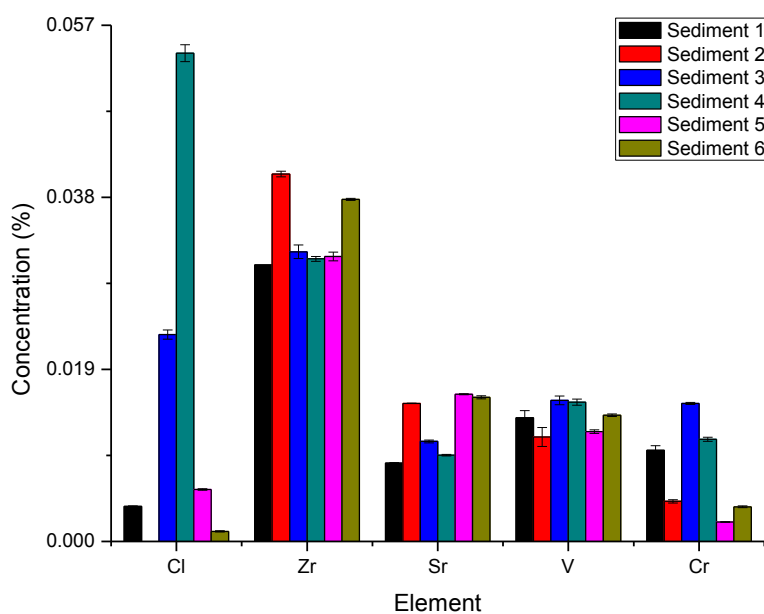


Figure 4- 19: Trace element comparison for different sediment samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Cl, Zr, Sr, V and Cr.

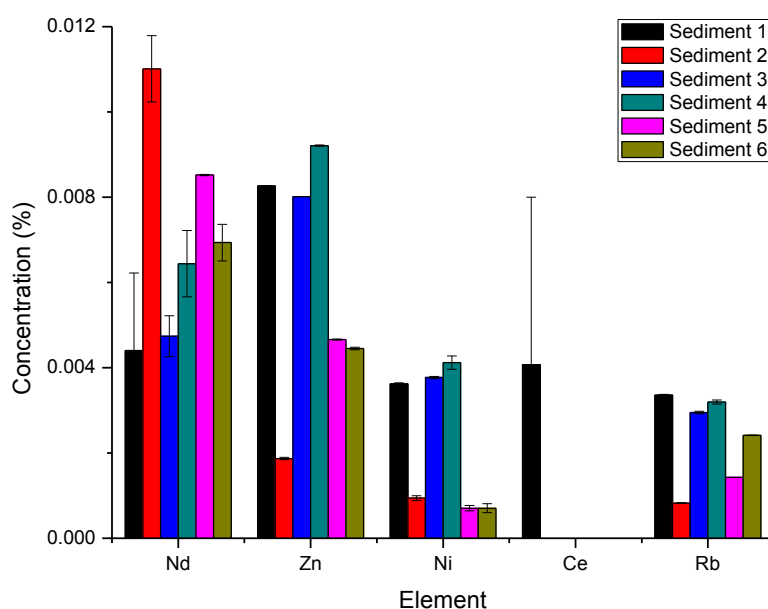


Figure 4- 20: Trace element comparison for different sediment samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Nd, Zn, Ni, Ce and Rb.

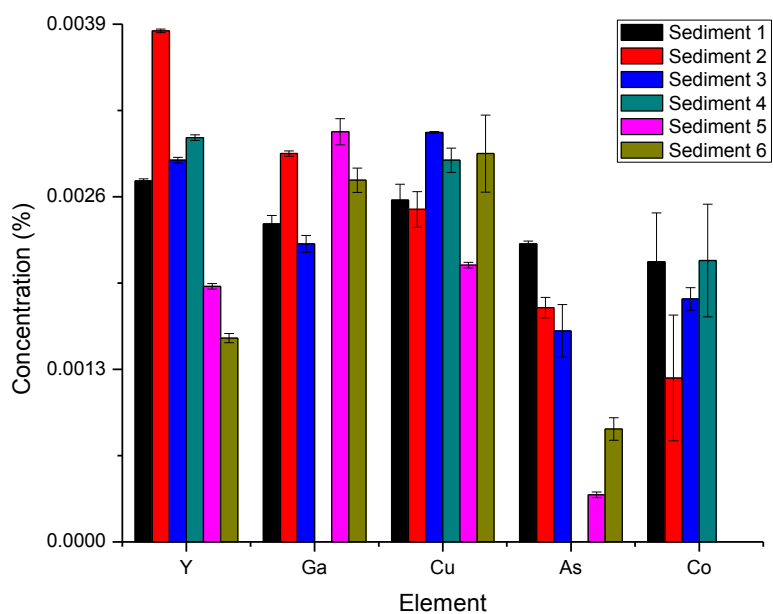


Figure 4- 21: Trace element comparison for different sediment samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Y, Ga, Cu, As and Co.



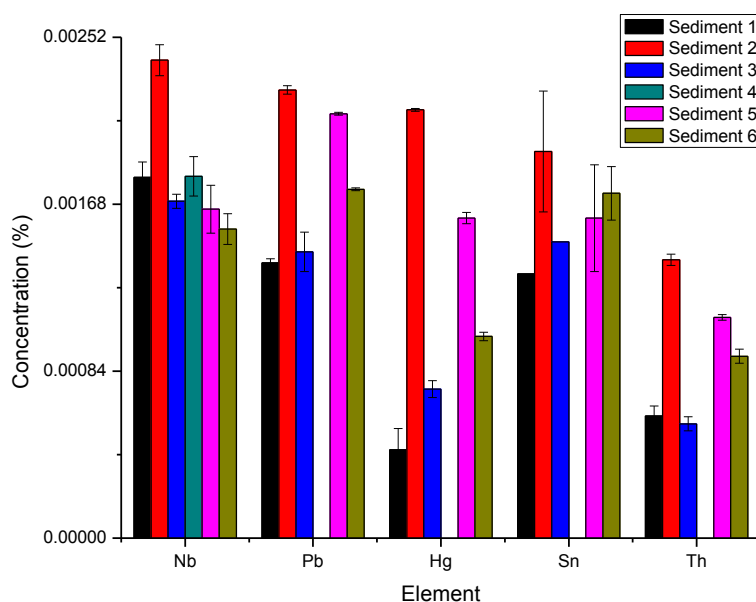


Figure 4- 22: Trace element comparison for different sediment samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Nb, Pb, Hg, Sn and Th.

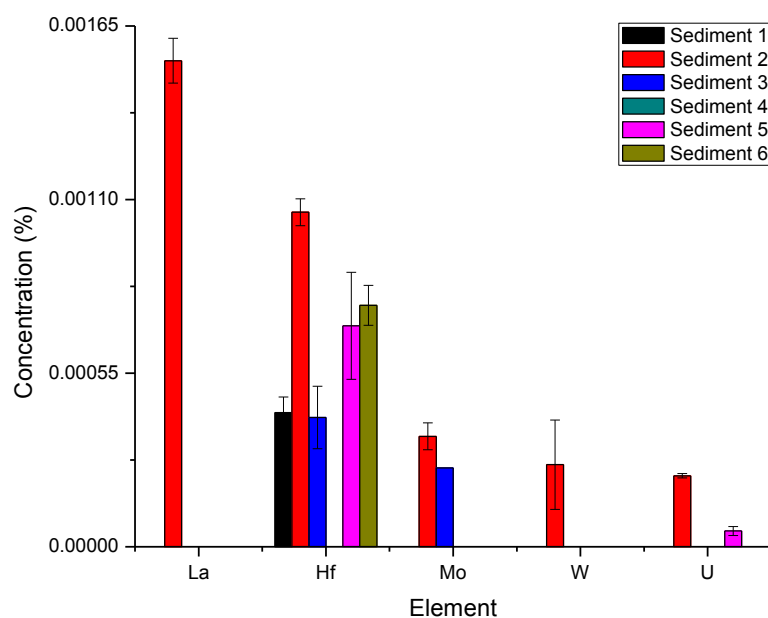


Figure 4- 23: Trace element comparison for different sediment samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements La, Hf, Mo, W and U.

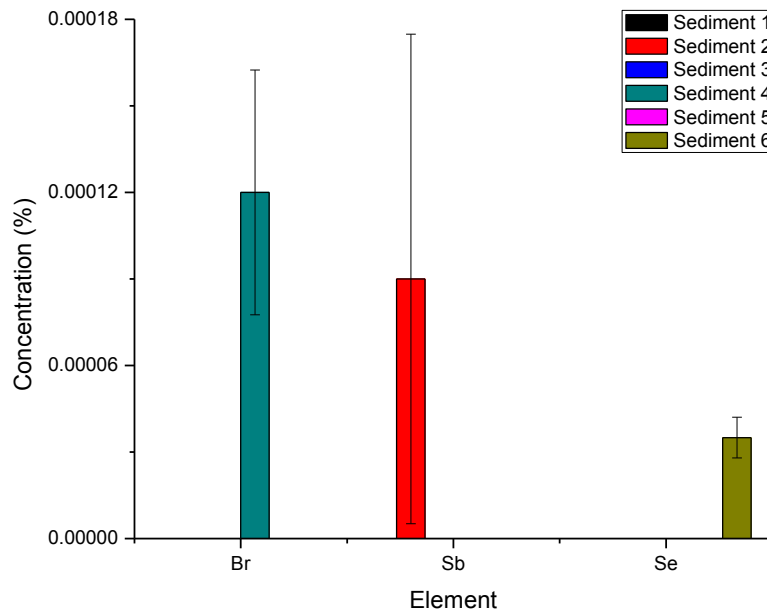


Figure 4- 24: Trace element comparison for different sediment samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Br, Sb and Se.

According to results of analysis trace elements concentration at various sites are different, every site have different characteristics and unique. List of elements in order of their crustal abundances in the Earth's surface are O, Si, Al, Fe, Na, Ca, Mg, K, H, Mn, P, S, C, V, Cl, Cr, Zn, Ni, Cu, Co, N, Pb, Sn, Br, Be, As, F, Mo, W, Tl, I, Sb, Cd and Se [106]. The highest five elements found in the soil samples are Si, Fe, Al, Ti and Ca; while, in the sediment are Si, Al, S, Fe and Ti. However, Si is highest trace elements on both soil and sediment samples; over 90% of the Earth's crust is composed of silicate minerals, making silicon the second most abundant element in the Earth's crust (about 28% by mass) after oxygen [107].

Table 4-6 presents average concentration for the sediment and soil samples analyte by PEDXRF compared with the Earth's crust [108]. Sediment samples have highest average concentration compared with soil samples and Earth's crust for elements: Al, S, Ti, Ga, As, Hf and W; soil samples have highest concentration compared with the sediment samples and Earth's crust on elements: P, Cr, Fe, Br, Nb, Mo, Sn, Sb, Te, I, Hf, Hg and Pb; while, Earth's crust have highest concentration on elements: Si, K, Ca, V, Mn, Ni, Cu, Zn, Rb, Sr, Y, Ba, Th and U. Actually, the average concentration for the soil and sediment samples doesn't give a real concentration idea for every location; some location had very high concentration for specific element while others don't have. Nevertheless, average concentration give the idea about general difference, i.e. sulfur concentration is very high in the sediment ( $24243.33 \pm 153.91$  ppm) and soil ( $5527.93 \pm 51.01$  ppm) samples compare to the Earth's

crust (470 ppm) by several times, and this a normal situation for a geothermal environment, since fumaroles emit H<sub>2</sub>S gas to the atmosphere.

| Z  | Symbol | Element    | Soil<br>present work<br>ppm <sup>5</sup> | Sediment<br>present work<br>ppm | Earth's Crust<br>Concentration<br>ppm [108] |
|----|--------|------------|------------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------------|
| 11 | Na     | Sodium     | 3442.86 ± 111.12                         | 6623.33 ± 223.92                | 25000                                       |
| 12 | Mg     | Magnesium  | 3637.40 ± 30.26                          | 4706.92 ± 58.34                 | 18700                                       |
| 13 | Al     | Aluminum   | 69683.57 ± 670.54                        | 98685.00 ± 1025.30              | 80500                                       |
| 14 | Si     | Silicon    | 252800.00 ± 1939.49                      | 249391.67 ± 2533.80             | 295000                                      |
| 15 | P      | Phosphorus | 1424.49 ± 11.68                          | 885.38 ± 16.33                  | 930                                         |
| 16 | S      | Sulfur     | 5527.93 ± 51.01                          | 24243.33 ± 153.91               | 470                                         |
| 17 | Cl     | Chlorine   | 75.53 ± 1.07                             | 174.98 ± 3.34                   | 170                                         |
| 19 | K      | Potassium  | 6121.64 ± 77.48                          | 7051.92 ± 92.98                 | 25000                                       |
| 20 | Ca     | Calcium    | 2905.66 ± 44.91                          | 3061.53 ± 44.76                 | 29600                                       |
| 22 | Ti     | Titanium   | 9825.07 ± 113.84                         | 10433.00 ± 132.23               | 4500                                        |
| 23 | V      | Vanadium   | 116.30 ± 2.61                            | 137.03 ± 4.99                   | 90                                          |
| 24 | Cr     | Chromium   | 107.04 ± 2.19                            | 78.33 ± 1.91                    | 83                                          |
| 25 | Mn     | Manganese  | 251.21 ± 3.03                            | 307.68 ± 4.25                   | 1000                                        |
| 26 | Fe     | Iron       | 49921.00 ± 363.25                        | 46692.50 ± 430.16               | 46500                                       |
| 27 | Co     | Cobalt     | 15.46 ± 3.62                             | 18.24 ± 3.38                    | 18                                          |
| 28 | Ni     | Nickel     | 23.29 ± 1.56                             | 23.10 ± 0.73                    | 58                                          |
| 29 | Cu     | Copper     | 23.37 ± 0.48                             | 26.75 ± 1.11                    | 47                                          |
| 30 | Zn     | Zinc       | 52.33 ± 0.55                             | 60.78 ± 0.15                    | 83                                          |
| 31 | Ga     | Gallium    | 24.30 ± 0.71                             | 26.76 ± 0.68                    | 19                                          |
| 33 | As     | Arsenic    | 9.04 ± 0.56                              | 13.61 ± 0.81                    | 1.7                                         |
| 34 | Se     | Selenium   | 0.28 ± 0.11                              | 0.35 ± 0.07                     | 0.05                                        |
| 35 | Br     | Bromine    | 2.75 ± 0.18                              | 1.20 ± 0.42                     | 2.1                                         |
| 37 | Rb     | Rubidium   | 24.81 ± 0.12                             | 23.62 ± 0.19                    | 150                                         |
| 38 | Sr     | Strontium  | 105.31 ± 0.48                            | 127.69 ± 0.91                   | 340                                         |
| 39 | Y      | Yttrium    | 18.41 ± 0.17                             | 26.58 ± 0.21                    | 29                                          |
| 40 | Zr     | Zirconium  | 328.28 ± 2.96                            | 339.24 ± 3.19                   | 170                                         |
| 41 | Nb     | Niobium    | 23.94 ± 0.49                             | 18.24 ± 0.81                    | 20                                          |
| 42 | Mo     | Molybdenum | 5.52 ± 0.21                              | 3.00 ± 0.21                     | 1.1                                         |
| 47 | Ag     | Silver     | 2.55 ± 2.76                              | -                               | 0.07                                        |
| 48 | Cd     | Cadmium    | 0.90 ± 1.13                              | -                               | 0.13                                        |
| 50 | Sn     | Tin        | 19.33 ± 0.97                             | 16.22 ± 1.41                    | 2.5                                         |
| 51 | Sb     | Antimony   | 10.58 ± 1.66                             | 0.90 ± 0.85                     | 0.5                                         |
| 52 | Te     | Tellurium  | 6.27 ± 2.03                              | -                               | 0.001                                       |

<sup>5</sup> ppm = 10<sup>-4</sup> %

|    |    |              |                   |                   |       |
|----|----|--------------|-------------------|-------------------|-------|
| 53 | I  | Iodine       | $4.28 \pm 0.88$   | -                 | 0.4   |
| 56 | Ba | Barium       | $393.39 \pm 6.99$ | $621.89 \pm 8.90$ | 650   |
| 57 | La | Lanthanum    | $22.50 \pm 15.41$ | $15.40 \pm 0.71$  | 29    |
| 58 | Ce | Cerium       | $23.00 \pm 12.16$ | $40.75 \pm 39.24$ | 70    |
| 59 | Pr | Praseodymium | $6.55 \pm 5.16$   | -                 | 9     |
| 60 | Nd | Neodymium    | $40.66 \pm 7.70$  | $70.08 \pm 7.17$  | 37    |
| 72 | Hf | Hafnium      | $6.89 \pm 0.64$   | $6.72 \pm 0.85$   | 1     |
| 73 | Ta | Tantalum     | $2.45 \pm 2.33$   | -                 | 2.5   |
| 74 | W  | Tungsten     | $1.12 \pm 0.54$   | $2.60 \pm 1.41$   | 1.3   |
| 80 | Hg | Mercury      | $18.17 \pm 0.73$  | $11.95 \pm 0.41$  | 0.083 |
| 82 | Pb | Lead         | $22.71 \pm 1.24$  | $17.94 \pm 0.31$  | 16    |
| 90 | Th | Thorium      | $9.64 \pm 0.28$   | $9.23 \pm 0.33$   | 13    |
| 92 | U  | Uranium      | $1.33 \pm 0.11$   | $1.38 \pm 0.11$   | 2.5   |

Table 4- 6: Chemical traces elements concentration comparison between analyzed (PEDXRF) soil and sediment samples with Earth's crust.

The chemical trace elements analysis for the soil, sediment and water samples by using ICP-AES are Fe, Al, S, K, P and B; the elements Fe, S, K, P and B are important nutrients for the plants, while, Al found in big quantity in hot springs and fumaroles in Los azufres. Trace element composition details with comparison between different locations for soil, sediment and water samples shown in figures 4-26, 4-27 and 4-28.

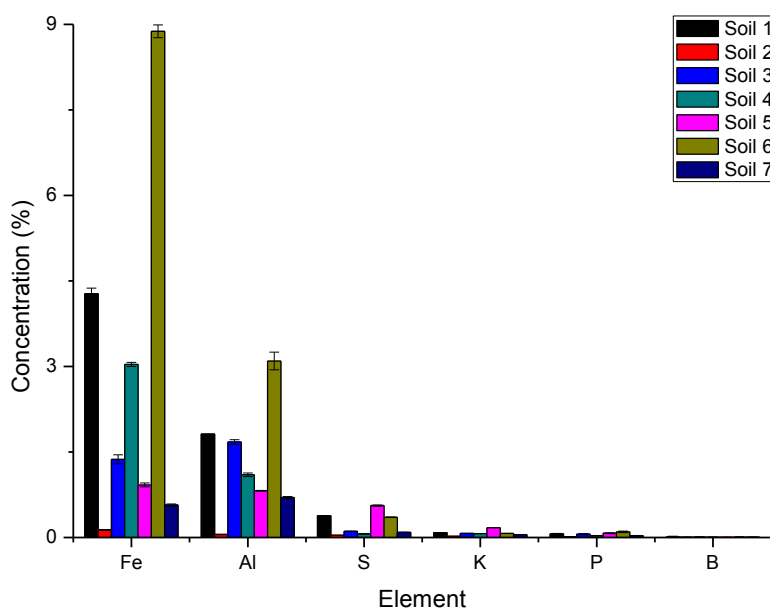


Figure 4- 25: Trace element comparison for different soil samples locations with the same elements, by using ICP-AES, elements Fe, Al, S, K, P and B.

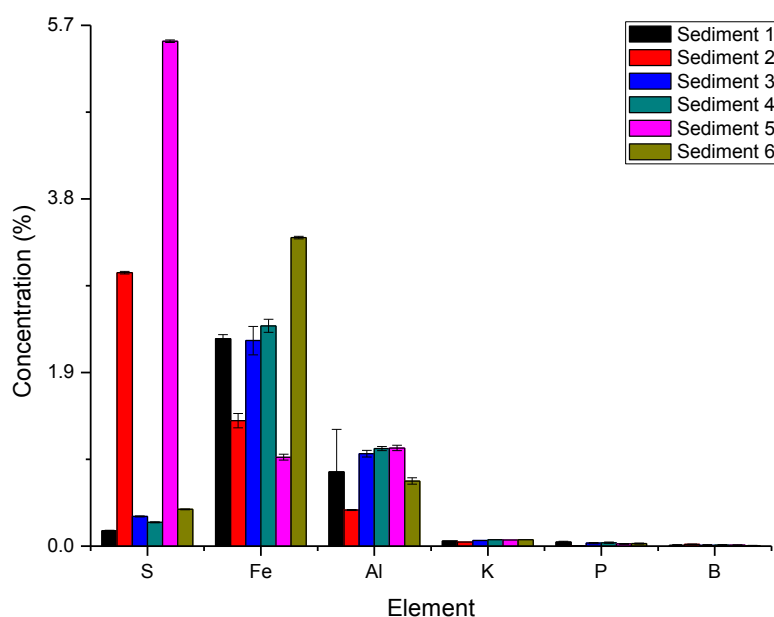


Figure 4- 26: Trace element comparison for different sediment samples locations with the same elements, by using ICP-AES, elements S, Fe, Al, K, P and B.

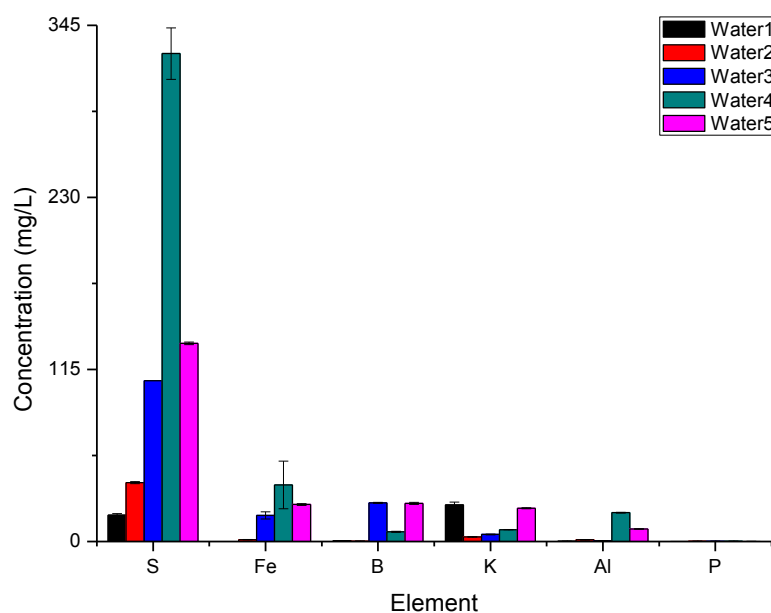


Figure 4- 27: Trace element comparison for different water samples locations with the same elements, by using ICP-AES, elements S, Fe, B, K, Al and P.

PEDXRF gave total amount of the elements inside the samples; whereas, ICP-AES analysis adsorb or mobile elements in the sediment and rhizospheric soil samples; both techniques integrated each other; The ratio (ICP-AES/ PEDXRF) of concentration for chemical trace elements gave the difference between total and mobile elements concentration; as shown in figures 4-29 and 4-30.

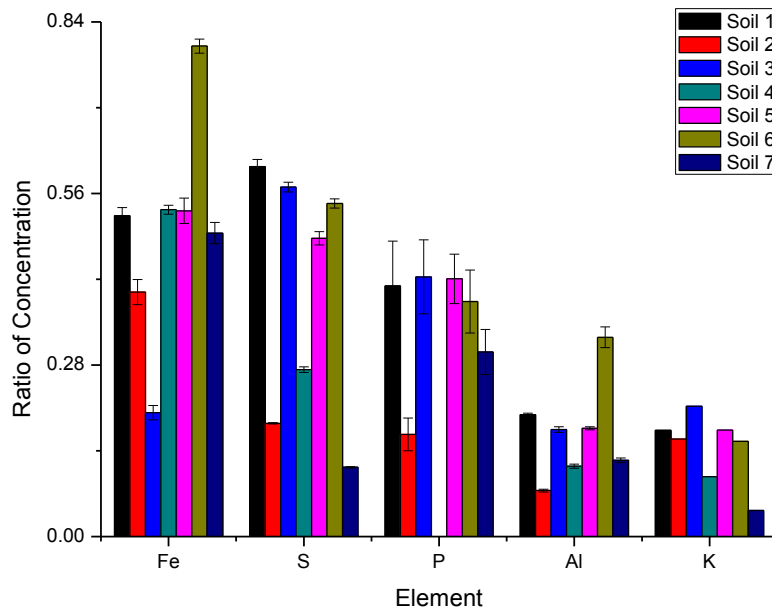


Figure 4- 28: Ratio (ICP-AES/PEDXRF) of concentration comparison for different soil samples locations with the same elements, elements Fe, S, P, Al and K.

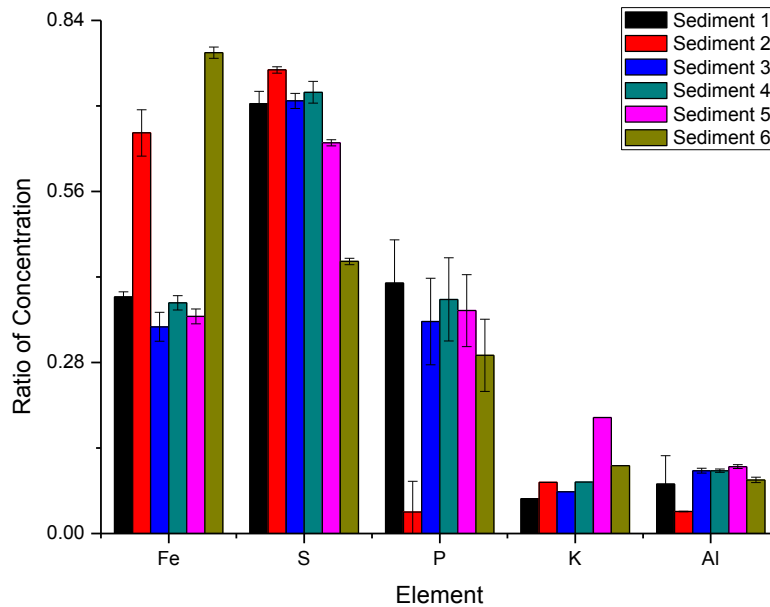


Figure 4- 29: Ratio (ICP-AES/PEDXRF) of concentration comparison for different sediment samples locations with the same elements, elements Fe, S, P, K and Al.

High mobility elements found in soil and sediment samples; sediment samples have higher mobility elements than soil samples; the highest mobility elements are Fe, S and P; while, K and Al less mobility's. Mobility elements can uptake by the root of the plants and use these elements in metabolic process.

The ratio of concentration shown that the rhizosphere soil and sediment samples are enhance elements needed to grow the plants; indeed, hot springs and fumaroles enriched nutrients in the rhizosphere soil; thus, increase the number and diversity of plants.

#### 4.4 CONCLUSIONS

PEDXRF methods do not compare directly with the ICP-AES methods; PEDXRF methods analysis total amounts of the analyte, whereas ICP-AEA methods analysis only the components labile in nitric acid or adsorb or mobile elements of the analyte. ICP-AES has a great advantage in measuring liquid samples, and that ability consider the most important advantage for ICP-AES methods. However, PEDXRF can analysis the liquid samples; boiling liquid samples during the analysis by the heat produced of x-ray consider disadvantage and could be dangerous; heat could change the concentration, and volatilized or vaporized could be dangerous for the health; furthermore, volatilized or vaporized from the sample could destroy the detector or x-ray tube. The main advantage in PEDXRF methods is the ability to analysis the powder samples, this future not available in the ICP-AES methods.

The trace elements concentration in soil and sediment samples is normally much higher than those for water samples. The matrix in the liquid samples is simple compared with the soil and sediment samples.

The areas near to the fumaroles and hot springs have higher concentration of trace elements compared with other areas. Every location has different trace elements concentration. Unique properties of trace elements composition in fumaroles and hot springs provide necessary nutrient and fertilize the plants. That uniqueness creates the ability to enrich the plants and animals life.

## **CHAPTER 5: TRACE ELEMENTS CHARACTERIZATION AND CONCENTRATION FOR MOSSES AND FERNS IN VENT OR / AND NEAR THE FUMARoles AND HOT SPRINGS IN LOS AZUFRES**

### **5.1 INTRODUCTION**

In a geothermal habitat, heat from the Earth's interior creates a constant supply of very hot water. As the heated water passes through the Earth's surface, it may dissolve a range of minerals, which are added to the surface environment. Despite this unusual combination of chemistry and temperature, these habitats support a variety of forms of life [109].

Geothermal habitats are located across the planet, most commonly in areas subject to volcanic activity [109]. Los Azufres, Michoacán, Mexico geothermal field, in the central portion of México, is located in the volcanic belt, at an average elevation of 2800 meters above sea level, is an active geothermal [110]. Geothermal habitats feature such as fumaroles and hot springs available in Los Azufres; fumaroles defined as openings in the Earth's surface where pressurized steam and gases are able to escape [109]; the fumaroles are linked to secondary volcanic phenomena [111]; while, hot springs are the result of heated water finding its way to the surface through cracks, where it forms small ponds; the water is heated by the molten magma beneath the Earth's surface. Geysers are eruptions of steam and water caused by the accumulation of hot water below the surface of a hot spring [109].

Some plants are able to tolerate the extreme conditions found in geothermal habitats. Species of ferns and mosses found in geothermal habitats survives maybe because the steam and heated soils protect them from frosts and the animals [109].

The environments of geothermal areas (sometimes termed solfataras) are characterized by steep gradients in temperature, unusual concentrations of minerals and elements, and high acidity. Geothermal systems are important for energy extraction, and tourism. However, the ecology of geothermal biota has been little studied [112].

The fumaroles represent a very interesting and peculiar habitat, characterized by high temperatures and emission of hot fumes including a high percentage of sulphur; this type of habitat exclusively the colonization of very specialized plants. The fumarole mouth is generally covered around by cushions of bryophytes. In particular, there are two types of



fumaroles: the gas emission comes out from rocky fissures or through ground holes [113 and 111].

Mosses and ferns occur within a few centimeters of the vents where temperatures reach above 80°C, while temperatures within adjacent moss turf can reach 35–50°C or more and remain consistently between 25–45°C. In a global context geothermal areas provide a unique type of habitat for plants. The combination of heat, steam, substrate instability and often negligible nutrient concentrations or toxic levels of sulphurous gas and mineral deposits, impose severe constraints on colonizing plants, few of which are adapted to survive such conditions [114].

The occurrence of these mosses and ferns linked to particularly geothermal gives to the fumaroles and hot springs habitat the significance of conservative environment. In fact, it represents a refuge site for relict taxa flora, enabling also the speciation processes [111].

Little is known about the conditions on the primitive early Earth under which the first life forms and subsequently the first cells have evolved. Life is most likely older than the oldest known rocks, so there is little chance to obtain clues on the earliest life habitats from the geological record. Geothermal mimic the primitive early Earths; however, study of these geothermic primitive plants lived in geothermal areas maybe help us to understand the primitive life on the Earth; and maybe that understandable leader us to understand other Planets.

The process of emissions characteristic x-rays is called X-Ray Fluorescence, XRF. When a primary x-ray excitation source from an x-ray tube or a radioactive source strikes a sample, the x-ray can either be absorbed by the atom or scattered through the material. The process in which an x-ray is absorbed by the atom by transferring all of its energy to an innermost electron is called the photoelectric effect. During this process, if the primary x-ray had sufficient energy, electrons are ejected from the inner shells, creating vacancies. These vacancies present an unstable condition for the atom. As the atom returns to its stable condition, electrons from the outer shells are transferred to the inner shells and in the process give off a characteristic x-ray whose energy is the difference between the two binding energies of the corresponding shells. Because each element has a unique set of energy levels, each element produces x-rays at a unique set of energies, allowing to non-destructively measuring the elemental composition of a sample. Sometimes, as the atom returns to its stable condition, instead of emitting a characteristic x-ray it transfers the excitation energy directly to one of the outer electrons, causing it to be ejected from the atom. The ejected electron is called an Auger electron. This process is a competing process to XRF. Auger electrons are more probable in the low Z elements than in the high Z elements. Analysis using x-ray fluorescence is called X-ray Fluorescence Spectroscopy. In most cases the innermost K and L shells are involved in XRF detection [115]. A typical x-ray

spectrum from an irradiated sample will display multiple peaks of different intensities, which are KL fluorescence lines.

Standardless Fundamental Parameters (FP) its theoretical analysis method based on theoretical calibration. This type of program is limited to one specific matrix. TURBOQUANT-SPECTRO's uses screening analysis to determine elements from Na to U in completely unknown samples can be quickly analyzed. All matrix effects can be considered. This methodology therefore enables the analyst to obtain elemental composition even when standard vegetal samples are not available. In a general way, the relative precision this quantitation method (if the mass absorption coefficient is well and accuracy of the results using documented) are usually better than 5–10%, which is sufficient for most environmental purposes. The particularly high degree of scattering by light matrices causes a major problem for the application of XRF to the analysis of trace and ultra-trace elements in organic materials (e.g., plant specimens) [116].

Physical effects of matrices result from variations in physical characteristics of the sample, including particle size, uniformity, homogeneity and surface condition. In plant samples, the effects of segregation and grain size are considered to be relatively small if adequate procedures are used for grinding and pelletization [116].

Chemical effects of matrices result from differences in concentrations of interfering elements present in the sample. Vegetal materials comprise mainly C, N, H and O (~98%), which are mostly transparent to x-rays. As a result, absorption by vegetal matrices of the measured x-rays is relatively small compared to absorption by matrices of other materials (e.g., rock or soil samples), so absorption will be influenced by minor concentrations of other elements present in the vegetal matrix (e.g., S, Cl, K, Ca, Fe etc.) [116].

The background can be reduced very significantly by using polarized x-ray sources. However, a secondary target is interposed between the x-ray tube and the sample configuring a Cartesian geometry (tri-axial, 3D) between source, sample and detector. With this geometry, a significant reduction of the background in the fluorescent spectrum is achieved because the exciting radiation is polarized when scatter occurs through the right angle and cannot then be scattered a second time into the detector, so the sensitivity and limit of detections of minor and trace elements are better than those of conventional spectrometers [116].

Most XRF techniques comply with desired features for analysis of vegetal specimens, including: (1) the possibility of performing analysis directly on solid samples; (2) multi-element capability; (3) the possibility of performing qualitative, semi-quantitative and quantitative determinations; (4) a wide dynamic range; (5) high throughput; (6) low cost per determination; (7) simple sample preparation [116].

Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectrometry ICP-AES is an emission spectrophotometric technique, exploiting the fact that excited electrons emit energy at a given wavelength as they return to ground state. The fundamental characteristic of this process is that each element emits energy at specific wavelengths peculiar to its chemical character. Although each element emits energy at multiple wavelengths, in the ICP-AES technique it is most common to select a single wavelength (or a very few) for a given element. The intensity of the energy emitted at the chosen wavelength is proportional to the amount (concentration) of that element in the analyzed sample. Thus, by determining which wavelengths are emitted by a sample and by determining their intensities, the analyst can quantify the elemental composition of the given sample relative to a reference standard. The critical advantage of ICP-AES is that rapid and quantitative analysis of a variety of sample types can be conducted relatively easily with a single instrument [43].

ICP-AES analysis requires a sample to be in solution. Thus, interstitial waters can be analyzed simply, requiring only dilution in most cases. Igneous rocks, sedimentary rocks, and sediments, however, must be dissolved. This can be achieved either by a combined acid attack employing HF, HNO<sub>3</sub>, and HCl acids, or by a LiBO<sub>2</sub> flux-fusion technique similar to that used for XRF preparation. The acid digestion procedure also often results in incomplete analysis of refractory elements such as Ti, Cr, and Zr because their host minerals are often difficult to dissolve [43].

### 5.1.1 PHYTOREMEDIATION

Phytoremediation, the use of green plants and their associated microbes to remove pollutants from the environment (cleanup) or to render them harmless [117 and 118]; indeed, it is an efficient cleanup technology, and it can be applied to both of variety organic and inorganic pollutants, present in solid substrates (e.g. soil), liquid substrates, (e.g. groundwater and surface water), and the air or gaseous substrates [118, 119 and 120]; plants can also be used to filter air, both outdoors and indoors, from, e.g., NO<sub>x</sub>, SO<sub>2</sub>, ozone, CO<sub>2</sub>, nerve gases, dust or soot particles, or halogenated volatile hydrocarbons. Plants can be used for pollutant stabilization, extraction, degradation, or volatilization; this technology makes use of the naturally occurring processes by which plants and their microbial rhizosphere flora degrade and sequester organic and inorganic pollutants [119]. Phytoremediation is being developed as a potential remediation solution for thousands of contaminated sites in the world. The use of metal-accumulating plants to clean soil and water contaminated with toxic metals is the most rapidly developing component of this environmentally friendly, cost-effective technology and their inherently aesthetic nature [117 and 120]. Phytoremediation has recently become a subject of intense public and scientific interest [117].

The metals targeted for phytoremediation non-radioactive include Pb, Cd, Cr, As, Hg, Zn etc. and radionuclides Sr, Cs and U (referred to here as toxic metals) are the most environmentally important metallic pollutants [117 and 121]. The harvested plant tissue, rich in accumulated contaminant, is easily and safely processed by drying, ashing or composting. The volume of toxic waste produced as a result is generally a fraction of that of many current, and the associated costs are much less. Some metals can be reclaimed from the ash, which further reduces the generation of hazardous waste and generates recycling revenues [117]. Plant-based remediation techniques are showing increasing promise for use in soils contaminated with organic and inorganic pollutants [121].

Plants are alive; their roots require oxygen, water and nutrients. Soil texture, pH, salinity, pollutant concentrations and the presence of other toxins must be within the limits of plant tolerance. Contaminants with highly water soluble may leach chemical processes, and may need to be considered as a long-term remediation process [121].

Inorganics are taken up by biological processes via membrane transporter proteins. These transporters occur naturally because inorganic pollutants are either nutrients themselves (e.g., nitrate, phosphate, copper, manganese, zinc) or are chemically similar to nutrients and are taken up inadvertently (e.g., arsenate is taken up by phosphate transporters, selenate by sulfate transporters) [119].

Plants can release compounds from their roots that affect pollutant solubility and uptake by the plant. Inside plant tissues such chelator compounds also play a role in tolerance, sequestration, and transport of inorganics and organics [121]. In support of this, it has been demonstrated that some plant species tolerate Al in the rhizosphere by a mechanism involving exudation of citric and malic acids. Anyhow, soil microorganisms can also directly influence metal solubility by altering their chemical properties [122].

Potential for phytoremediation depends upon the interaction among soil, contaminants, microbes, and plants. This complex interaction, affected by a variety of factors, such as climatic conditions, soil properties, and site hydrogeology. Thus, an understanding of the basic plant mechanisms and the effect of agronomic practices on plant, soil and contaminant interaction would allow practitioners to optimize phytoremediation by customizing the process to site-specific conditions [122].

#### **5.1.1.1 HYPER-ACCUMULATOR PLANTS**

Hyper-accumulator plants are conventionally defined as species capable of accumulating metals at levels 100-fold greater than those typically measured in common non-accumulator plants. Thus, a hyper-accumulator plants will concentrate more than 10 ppm Hg; 100 ppm Cd; 1,000 ppm Co, Cr, Cu, and Pb; and 10,000 ppm Ni and Zn. To date,

approximately 400 plant species from at least 45 plant families have been reported as hyper-accumulate plant metals; further, hyper-accumulator metal species, capable of taking up to thousands of ppm [122]; details, most hyper-accumulator species are able to accumulate between 1-5% of their biomass as metals [123].

Hyper-accumulator plants are taxonomically widespread throughout the plant kingdom. A member of the Brassica family, *Thlaspi caerulescens*, can accumulate up to 4% zinc in its tissue without apparent damage. However, the potential for application of hyper-accumulators in bioremediation is limited by several factors: 1) hyper-accumulators often accumulate only a specific element and have not been found for all elements of interest; 2) most hyper-accumulators grow slowly and have small biomass; 3) little is known about their agronomic characteristics, pest management, breeding potential and physiology [121]; 4) phytoremediation is limited by root depth, plants have to be able to reach the pollutant [119].

### 5.1.2 OBJECTIVES

Natural occurrence of plant species capable of accumulating extraordinarily high metal levels makes the investigation of this process particularly interesting. The general aim of this investigation was to provide a general description of hyper-accumulator plant species living in extreme conditions in geothermal of Los Azufres, Mexico; indeed, sub objectives are: (1) describe the thermal environment experienced by vegetation (mosses and ferns) around define fumaroles and hot springs; (2) characteristics and concentrations of chemical trace elements major and minor in hyper-accumulator plant species (mosses and ferns) in Los Azufres; (3) correlate the relationship between rhizosphere soil and vegetation (mosses and ferns); (4) improve our knowledge of the hyper-accumulator plant species; (5) correlate high concentration trace elements to the species of the hyper-accumulator plants (mosses or fern).

## 5.2 MATERIAL AND METHODS

### 5.2.1 INSTRUMENTATION

Different techniques were applied to determine the chemical trace elements compositions and concentrations. Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES or ICP-OES) and Polarized Energy Dispersive X-Ray Fluorescence (PEDXRF) Spectrometry chosen for this study; both techniques are reliable for determination of chemical trace elements. Detection limits of less than 1  $\mu\text{g g}^{-1}$  were attainable for many elements using PEDXRF with modern software to produce clean

spectra, net peak intensities, accurate corrections for inter-element matrix effects and spectral tube impurities.

Optima 8000 ICP-OES Spectrometer (PerkinElmer, Inc., Waltham, USA) with dual-view and full wavelength range CCD array detector configuration was used for analysis concentrations B, Al, P, S, Fe, K and Pb; ICP-AES analysis done in University of Texas, Texas, USA.

SPECTRO XEPOS III (Spectro Analytical Systems GmbH, Kleve, Germany) uses PEDXRF spectrometry set up. The excitation is done by low power x-ray tube and simultaneous determination of fluorescence radiation. It can be used for fast elemental screening analysis and/or the precise analysis of major and minor compounds in material; PEDXRF analysis done in University of Michoacán, Morelia, Mexico.

The precision and accuracy of the PEDXRF spectrometry were tested by the analyses of the Standard Reference Materials (SRMs) ceramic 98a Plastic Clay (NIST, Maryland, USA) and soil GSS-1 (NRCG, Beijing, China) powders. These two standards were very well homogenized, and mean particle size are  $12.980 \pm 3.387 \mu\text{m}$  and  $5.955 \pm 3.293 \mu\text{m}$ , respectively; mean particle size measured by laser particle analyzer (LS100Q Laser Particle Analyzer Beckman Coulter Corp., California, USA).

### 5.2.2 SITE DESCRIPTIONS

The fluids contained in the reservoir of Los Azufres geothermal field is used by Comisión Federal de Electricidad, CFE (English: Federal Electricity Commission) to generate electricity, besides is scientific and historical values; in recent years, Los Azufres become a major tourist attraction.

Three sites chosen for this work Nopalito I, Cumbres I and Cumbres II; the three sites in Los Azufres are at high altitude, and human influence has been very limited to these sites; indeed, these sites are not used for tourism or other activity. Two sites changed within 2 years, e.g. disappear hot spring, new fumarole start etc.; anyhow, all the hot springs changes according to the rain seasons; to reduce the effect of the changing seasons, sampling were done approximately on the same date with different years; sites location shown in figure 4-6.

Site Nopalito I: consist of several fumaroles; the size and activity for the fumaroles is varying; in our work, primary choice is the most active fumaroles. The site consists of main hot spring, and small hot springs depend on the quantity of rain; the main hot spring is near to the fumaroles. In the summer, the level of the water become very high (season of rain), and a lot of small hot springs become active.

Site Cumbres I and Cumbres II: the two sites are connected to each other. Cumbres I consist of main hot spring, and series of hot springs and fumaroles; these hot springs and fumaroles series are in a rocks area, between the rocks few plants grow; indeed, hot springs and fumaroles series connect Cumbres I and Cumbres II. Cumbres II start by series of the hot springs and fumaroles, after the end of these series plants available in huge amount; fumaroles also available in Cumbres II were collected the moss samples; however, the fumaroles maybe changes in future to the hot spring.

The geothermal vegetation at Los Azufres is notable as: (a) it contains several rare plant species, (b) weeds and (c) it is surrounded by indigenous forests. All sites which were used to collect the plants were by its nature very dangerous areas and they are under supervision.

### 5.2.3 SAMPLE PREPARATION PROCEDURES

Thirty three samples analysis for fern and moss by using PEDXRF and ICP-AES; details, the samples divided to the 17 moss and 16 fern (4 full ferns, and 12 ferns divided into 6 roots and 6 stems and leafs) samples; sampling site, date and note for every sampling location shown in table 5-1 and 5-2. Indeed, we are interested in unique plants lives in extreme conditions. Some mosses and ferns associated either with active or non-heated geothermal ground, but all the plants under influence of the geothermal. All ferns and mosses were collected from their natural habitats.

| Sample Name | Sampling Site | Date of Sampling | Note for Sampling Location                                                |
|-------------|---------------|------------------|---------------------------------------------------------------------------|
| 1F          | Cumbres II    | 3/12/2010        | ~20m far away from the hot spring                                         |
| 2F          | Cumbres II    | 1/12/2011        | ~40m far away from the hot spring                                         |
| 3F          | Cumbres I     | 1/12/2011        | ~3m far away from the hot spring; hot spring disappear on that site       |
| 4F          | Nopalito I    | 1/12/2011        | On the fumarole vent                                                      |
| 5F          | Cumbres II    | 3/12/2010        | ~25m far away from the hot spring                                         |
| 6F          | Cumbres II    | 3/12/2010        | ~30m far away from the hot spring                                         |
| 7F          | Nopalito I    | 3/12/2010        | ~20m far away from the hot spring and ~2m far away from the fumarole vent |
| 8F          | Nopalito I    | 3/12/2010        | ~20m far away from the hot spring and ~2m far away from the fumarole vent |
| 9F          | Cumbres II    | 3/12/2010        | ~60m far away from the hot spring                                         |
| 10F         | Cumbres I     | 1/12/2011        | ~3m far away from the hot spring; hot spring disappear on that site       |
| 11F         | Cumbres II    | 1/12/2011        | ~40m far away from the hot spring                                         |
| 12F         | Cumbres II    | 1/12/2011        | ~60m far away from the hot spring                                         |
| 13F         | Nopalito I    | 1/12/2011        | On the fumarole vent                                                      |
| 14F         | Cumbres II    | 3/12/2010        | ~40m far away from the hot spring                                         |
| 15F         | Cumbres II    | 3/12/2010        | ~60m far away from the hot spring                                         |
| 16F         | Cumbres II    | 3/12/2010        | ~40m far away from the hot spring                                         |

**Table 5- 1: Sampling site, date of sampling and note for sampling location for fern samples.**

| Sample Name | Sampling Site | Date of Sampling | Note for Sampling Location                                                 |
|-------------|---------------|------------------|----------------------------------------------------------------------------|
| <b>1M</b>   | Cumbres I     | 12/03/2010       | ~50cm far away from the hot spring ; hot spring disappear on that site     |
| <b>2M</b>   | Nopalito I    | 12/03/2010       | On the fumarole vent                                                       |
| <b>3M</b>   | Cumbres II    | 12/03/2010       | ~70m far away from the hot spring and 1-2m far away from the fumarole vent |
| <b>4M</b>   | Nopalito I    | 12/03/2010       | On the fumarole vent                                                       |
| <b>5M</b>   | Nopalito 1    | 12/03/2010       | On the fumarole vent                                                       |
| <b>6M</b>   | Cumbres II    | 12/01/2011       | ~70m far away from the hot spring and 1-2m far away from the fumarole vent |
| <b>7M</b>   | Nopalito I    | 12/01/2011       | On the fumarole vent                                                       |
| <b>8M</b>   | Cumbres II    | 12/01/2011       | ~70m far away from the hot spring and 1-2m far away from the fumarole vent |
| <b>9M</b>   | Cumbres II    | 12/01/2011       | ~70m far away from the hot spring and 1-2m far away from the fumarole vent |
| <b>10M</b>  | Nopalito 1    | 12/01/2011       | On the fumarole vent                                                       |
| <b>11M</b>  | Cumbres II    | 12/01/2011       | ~70m far away from the hot spring and 1-2m far away from the fumarole vent |
| <b>12M</b>  | Cumbres II    | 12/01/2011       | ~70m far away from the hot spring and 1-2m far away from the fumarole vent |
| <b>13M</b>  | Nopalito I    | 12/01/2011       | On the fumarole vent                                                       |
| <b>14M</b>  | Cumbres II    | 12/01/2011       | ~70m far away from the hot spring and 1-2m far away from the fumarole vent |
| <b>15M</b>  | Nopalito I    | 12/01/2011       | On the fumarole vent                                                       |
| <b>16M</b>  | Cumbres II    | 12/01/2011       | ~70m far away from the hot spring and 1-2m far away from the fumarole vent |
| <b>17M</b>  | Cumbres II    | 12/03/2010       | ~70m far away from the hot spring and 1-2m far away from the fumarole vent |

**Table 5- 2: Sampling site, date of sampling and note for sampling location for moss samples.**

The plants were washed very well with tap water, then by ultrapure (distil) water to remove superficial dust; all plants were dried at 60 °C for more than 48h (depend on the quantity of water content). However, most solid materials required sample pretreatment to make them homogeneous and to ensure the quality and reproducibility of analysis [116]. All samples ground into small particle size by mortar and pestle (<5mm), and to fine powder < 105µm done by an electrical machine (Mixer Mill MM 400, RETSCH, Germany), and passed through a sieve with a 140 mesh and width 105µm; Indeed, all the samples spent 24h in the oven to ensure there is no humidity. Finally, most dried samples pressed into internal diameter 25mm pellet; one sample analysis as loose powder form; details for pellets densities, physical depths and weights, are shown in tables 5-3 and 5-4.



| Sample Name | Sample Type | Diameter mm | Load to Make Pellet ton | Pressure Force/Area N/m <sup>2</sup> | Sample Weight <sup>6</sup> g | Physical Depth mm | Density g/mm <sup>3</sup>                             |
|-------------|-------------|-------------|-------------------------|--------------------------------------|------------------------------|-------------------|-------------------------------------------------------|
| 1F          | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 3.9996                       | 8.2760 ± 0.0378   | 9.1800 × 10 <sup>-4</sup> ± 4.2057 × 10 <sup>-6</sup> |
| 2F          | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 0.9248                       | 1.6620 ± 0.0746   | 1.0894 × 10 <sup>-3</sup> ± 4.8920 × 10 <sup>-5</sup> |
| 3F          | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 4.0006                       | 7.7980 ± 0.0192   | 1.0155 × 10 <sup>-3</sup> ± 2.5135 × 10 <sup>-6</sup> |
| 4F          | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 4.0005                       | 6.7700 ± 0.0235   | 1.1361 × 10 <sup>-3</sup> ± 3.9364 × 10 <sup>-6</sup> |
| 5F          | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 4.0002                       | 7.7680 ± 0.0497   | 9.8931 × 10 <sup>-4</sup> ± 6.3358 × 10 <sup>-6</sup> |
| 6F          | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 1.1773                       | 2.0440 ± 0.0207   | 1.1294 × 10 <sup>-3</sup> ± 1.1458 × 10 <sup>-5</sup> |
| 7F          | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 3.9992                       | 7.5380 ± 0.0228   | 1.0192 × 10 <sup>-3</sup> ± 3.0872 × 10 <sup>-6</sup> |
| 8F          | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 1.2596                       | 1.8020 ± 0.0217   | 1.3948 × 10 <sup>-3</sup> ± 1.6781 × 10 <sup>-5</sup> |
| 9F          | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 3.9991                       | 7.2040 ± 0.0152   | 1.0763 × 10 <sup>-3</sup> ± 2.2869 × 10 <sup>-6</sup> |
| 10F         | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 3.9993                       | 8.0180 ± 0.0286   | 9.6739 × 10 <sup>-4</sup> ± 3.4566 × 10 <sup>-6</sup> |
| 11F         | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 4.0002                       | 7.1860 ± 0.0351   | 1.0781 × 10 <sup>-3</sup> ± 5.2626 × 10 <sup>-6</sup> |
| 12F         | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 3.9997                       | 7.0580 ± 0.0409   | 1.0975 × 10 <sup>-3</sup> ± 6.3566 × 10 <sup>-6</sup> |
| 13F         | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 3.9993                       | 7.5180 ± 0.0217   | 1.0190 × 10 <sup>-3</sup> ± 2.9394 × 10 <sup>-6</sup> |
| 14F         | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 0.5363                       | 0.9780 ± 0.0179   | 1.0856 × 10 <sup>-3</sup> ± 1.9858 × 10 <sup>-5</sup> |
| 15F         | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 0.7821                       | 1.3560 ± 0.0134   | 1.1636 × 10 <sup>-3</sup> ± 1.1514 × 10 <sup>-5</sup> |
| 16F         | Powder      | 10          | Powder                  | Powder                               | 0.0514                       | 0.1460 ± 0.0616   |                                                       |

Table 5- 3: Pellets detail for each fern sample.

| Sample Name | Sample Type | Diameter mm | Load to Make Pellet ton | Pressure Force/Area N/m <sup>2</sup> | Sample Weight g | Physical Depth mm | Density g/mm <sup>3</sup>                             |
|-------------|-------------|-------------|-------------------------|--------------------------------------|-----------------|-------------------|-------------------------------------------------------|
| 1M          | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 0.9940          | 1.9200 ± 0.0235   | 1.0014 × 10 <sup>-3</sup> ± 1.2245 × 10 <sup>-5</sup> |
| 2M          | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 4.0003          | 6.9460 ± 0.0550   | 1.1116 × 10 <sup>-3</sup> ± 8.8130 × 10 <sup>-6</sup> |
| 3M          | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 3.9999          | 8.4820 ± 0.0327   | 9.0385 × 10 <sup>-4</sup> ± 3.4920 × 10 <sup>-6</sup> |
| 4M          | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 0.8657          | 1.5320 ± 0.0228   | 1.1072 × 10 <sup>-3</sup> ± 1.6480 × 10 <sup>-5</sup> |
| 5M          | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 2.0929          | 3.4660 ± 0.0230   | 1.1454 × 10 <sup>-3</sup> ± 7.6084 × 10 <sup>-6</sup> |
| 6M          | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 3.9993          | 6.7700 ± 0.0255   | 1.1438 × 10 <sup>-3</sup> ± 4.3254 × 10 <sup>-6</sup> |
| 7M          | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 3.9994          | 7.2540 ± 0.0391   | 1.0557 × 10 <sup>-3</sup> ± 5.6982 × 10 <sup>-6</sup> |
| 8M          | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 3.9999          | 6.8820 ± 0.0192   | 1.1159 × 10 <sup>-3</sup> ± 3.1216 × 10 <sup>-6</sup> |
| 9M          | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 3.9998          | 8.4020 ± 0.0432   | 9.4426 × 10 <sup>-4</sup> ± 4.8654 × 10 <sup>-6</sup> |
| 10M         | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 4.0002          | 6.8260 ± 0.0152   | 1.1391 × 10 <sup>-3</sup> ± 2.5358 × 10 <sup>-6</sup> |
| 11M         | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 3.9995          | 7.2200 ± 0.0552   | 1.0516 × 10 <sup>-3</sup> ± 8.0447 × 10 <sup>-6</sup> |
| 12M         | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 4.0008          | 7.9720 ± 0.0909   | 9.6654 × 10 <sup>-4</sup> ± 1.1031 × 10 <sup>-5</sup> |
| 13M         | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 3.9994          | 5.1040 ± 0.0195   | 1.5469 × 10 <sup>-3</sup> ± 5.9137 × 10 <sup>-6</sup> |
| 14M         | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 1.7781          | 3.3340 ± 0.0297   | 1.0244 × 10 <sup>-3</sup> ± 9.1160 × 10 <sup>-6</sup> |
| 15M         | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 1.3651          | 2.2000 ± 0.0200   | 1.2372 × 10 <sup>-3</sup> ± 1.1248 × 10 <sup>-5</sup> |
| 16M         | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 3.9996          | 8.7560 ± 0.0907   | 8.6821 × 10 <sup>-4</sup> ± 8.9970 × 10 <sup>-6</sup> |
| 17M         | Pellet      | 25          | 10.4                    | 207.2 × 10 <sup>6</sup>              | 3.6727          | 7.3820 ± 0.0228   | 9.4886 × 10 <sup>-4</sup> ± 2.9406 × 10 <sup>-6</sup> |

Table 5- 4: Pellets detail for each moss sample.

<sup>6</sup> It's recommended from SPECTRO XEPOS III (Spectro Analytical Instruments GmbH) to use 4g of sample in sample cup diameter 24 mm or in die diameter 32mm.

Dried ground pellets (diameter 25mm) were fixed in polyethylene sample cup 32mm for analysis, while one sample analysis as powder in sample cup 10mm (surface area = 78.54 $\mu\text{m}^2$ ). The sample cups were covered from one side with a thin film made from prolene. Finally, the samples obtained were analyzed by PEDXRF spectrometry.

Dried ground samples analysis by ICP-AES in University of Texas, Texas, USA; the digestion method followed is USEPA: method 3050B.

### 5.3 RESULTS AND DISCUSSION

Ferns and mosses chosen in this study; mosses (bryophyte) consider as an indicator for heavy elements; the ability for the mosses to live in fumarole vents and very near to the hot springs is unique; whereas, ferns have ability to lives in or near fumarole vents and hot springs, but the biomass is small compared with the ferns lives far away from the vents for the fumaroles or hot springs.

Sixteen fern samples and seventeen moss samples were analysis by PEDXRF and ICP-AES spectrometry; all the fern and moss samples identified by scientists; scientific name of the fern and moss samples has been given in tables 5-5 and 5-6.

| Sample Name | Fern Name                                                                   | Plant part            |
|-------------|-----------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| <b>1F</b>   | <i>Pteridium aquilinum</i> (L) Kuhn in v. d. Decken <b>DENNSTAEDTIACEAE</b> | Root, stem and leaves |
| <b>2F</b>   | <i>Phlebodium areolatum</i> (Humb.& Bompl. Ex Willd.) <b>POLYPODIACEAE</b>  | Root for 11F          |
| <b>3F</b>   | <i>Pteridium aquilinum</i> (L) Kuhn in v. d. Decken <b>DENNSTAEDTIACEAE</b> | Root for 10F          |
| <b>4F</b>   | <i>Pityrogramma calomelanos</i> <b>PTERIDACEA</b>                           | Root for 13F          |
| <b>5F</b>   | <i>Pteridium aquilinum</i> (L) Kuhn in v. d. Decken <b>DENNSTAEDTIACEAE</b> | Root, stem and leaves |
| <b>6F</b>   | <i>Phlebodium areolatum</i> (Humb.& Bompl. Ex Willd.) <b>POLYPODIACEAE</b>  | Root, stem and leaves |
| <b>7F</b>   | <i>Pityrogramma calomelanos</i> <b>PTERIDACEA</b>                           | Stem and leaves       |
| <b>8F</b>   | <i>Pityrogramma calomelanos</i> <b>PTERIDACEA</b>                           | Root for 7F           |
| <b>9F</b>   | <i>Lycopodium clavatum</i> L. <b>LYCOPODIACEA</b>                           | Stem and leaves       |
| <b>10F</b>  | <i>Pteridium aquilinum</i> (L) Kuhn in v. d. Decken <b>DENNSTAEDTIACEAE</b> | Stem and leaves       |
| <b>11F</b>  | <i>Phlebodium areolatum</i> (Humb.& Bompl. Ex Willd.) <b>POLYPODIACEAE</b>  | Stem and leaves       |
| <b>12F</b>  | <i>Lycopodium clavatum</i> L. <b>LYCOPODIACEA</b>                           | Root, stem and leaves |
| <b>13F</b>  | <i>Pityrogramma calomelanos</i> <b>PTERIDACEA</b>                           | Steam and leaves      |
| <b>14F</b>  | <i>Polypodium madrense</i> (J. Sm. in Seemann) <b>POLYPODIACEAE</b>         | Root, stem and leaves |
| <b>15F</b>  | <i>Lycopodium clavatum</i> L. <b>LYCOPODIACEA</b>                           | Root for 9F           |
| <b>16F</b>  | <i>Pteridium aquilinum</i> (L) Kuhn in v. d. Decken <b>DENNSTAEDTIACEAE</b> | Root                  |

Table 5- 5: Scientific name of fern samples and correlated with the part of fern.

| Sample Name | Moss Name                                                                               |
|-------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| 1M          | <i>Campylopus albidovirens</i> Herzog <b>DICRANACEAE</b>                                |
| 2M          | <i>Campylopus nivalis</i> (Brid.) Brid. <b>DICRANACEAE</b>                              |
| 3M          | <i>Campylopus nivalis</i> (Brid.) Brid. <b>DICRANACEAE</b>                              |
| 4M          | <i>Pylaisidelpha tenuirostris</i> (Bruch & Schimp. ex Sull.) W.R. Buck <b>HYPNACEAE</b> |
| 5M          | <i>Campylopus nivalis</i> (Brid.) Brid. <b>DICRANACEAE</b>                              |
| 6M          | <i>Atractylocarpus stenocarpus</i> (Wilson) R.H. Zander <b>DICRANACEAE</b>              |
| 7M          | <i>Atractylocarpus stenocarpus</i> (Wilson) R.H. Zander <b>DICRANACEAE</b>              |
| 8M          | <i>Campylopus pilifer</i> Brid. <b>DICRANACEAE</b>                                      |
| 9M          | <i>Pilopogon guadalupensis</i> (Brid.) J.-P. Frahm <b>DICRANACEAE</b>                   |
| 10M         | <i>Pylaisidelpha tenuirostris</i> (Bruch & Schimp. ex Sull.) W.R. Buck <b>HYPNACEAE</b> |
| 11M         | <i>Campylopus arctocarpus</i> (Hornsch.) Mitt. <b>DICRANACEAE</b>                       |
| 12M         | <i>Pilopogon guadalupensis</i> (Brid.) J.-P. Frahm <b>DICRANACEAE</b>                   |
| 13M         | <i>Atractylocarpus stenocarpus</i> (Wilson) R.H. Zander <b>DICRANACEAE</b>              |
| 14M         | <i>Campylopus flexuosus</i> (Hedw.) Brid. <b>DICRANACEAE</b>                            |
| 15M         | <i>Symblepharis vaginata</i> (Hook. ex Harv.) Wijk & Margad. <b>DICRANACEAE</b>         |
| 16M         | <i>Pilopogon guadalupensis</i> (Brid.) J.-P. Frahm <b>DICRANACEAE</b>                   |
| 17M         | <i>Campylopus arctocarpus</i> (Hornsch.) Mitt. <b>DICRANACEAE</b>                       |

Table 5- 6: Scientific name of moss samples.

Bryophyte (mosses, liverworts and hornworts) prefer to live in shadowed and moist areas, and maybe that's the main reason for the ability for mosses to live in fumarole vents or very near to the hot springs; the gases and vapor give the mosses what it needs to grow (shadowed and moist), beside protection against the insects. Ambient temperature recorded for every site and inside the fumarole vents (2.5 - 5 cm); humidity and light intensity measured; humidity was approximately stable for the different sites; light intensity was different from plant to plant; in general, mosses needed less light compared with the ferns; indeed, some ferns were living in shadowed areas with low light intensity; both parameters important for describing the life for the mosses and ferns near to the fumarole vents and hot springs; all these parameters shown in tables 5-7 and 5-8.

| Sample Name | Temperature Ambient °C | Temperature ambient inside the fumarole vent °C | Humidity % | Light Intensity lux |
|-------------|------------------------|-------------------------------------------------|------------|---------------------|
| 1F          | 21.1                   | Digital = 52.15; Thermometer = 45               | 67         | 336 × 10            |
| 2F          | 18.7                   |                                                 | 69         | 1117 × 1000         |
| 3F          | 18.7                   |                                                 | 69         | 1117 × 1000         |
| 4F          | 18.7                   |                                                 | 69         | 1378 × 1            |
| 5F          | 25.5                   |                                                 | 67         | 1382 × 1000         |
| 6F          | 16.8                   |                                                 | 67         | 1382 × 1000         |
| 7F          | 19.7                   |                                                 | 67         | 1256 × 1000         |
| 8F          | 19.7                   |                                                 | 67         | 1256 × 1000         |
| 9F          | 25.5                   |                                                 | 67         | 1382 × 1000         |
| 10F         | 18.7                   |                                                 | 69         | 1117 × 1000         |
| 11F         | 18.7                   | Digital = 52.15; Thermometer = 45               | 69         | 1117 × 1000         |
| 12F         | 18.7                   |                                                 | 69         | 1117 × 1000         |
| 13F         | 18.7                   |                                                 | 69         | 1378 × 1            |
| 14F         | 16.8                   |                                                 | 67         | 1382 × 1000         |
| 15F         | 25.5                   |                                                 | 67         | 1382 × 1000         |
| 16F         | 25.5                   |                                                 | 67         | 1382 × 1000         |

Table 5- 7: Different parameters measured on the sites, for fern samples.

| Sample Name | Temperature Ambient °C | Temperature ambient inside the fumarole vent °C | Humidity % | Light Intensity lux |
|-------------|------------------------|-------------------------------------------------|------------|---------------------|
| 1M          | 24.8                   | Digital = 60.9; Thermometer = 75                | 67         | 268 × 10            |
| 2M          | 19.7                   |                                                 | 67         | 547 × 1             |
| 3M          | 16.8                   |                                                 | 67         | 1382 × 1000         |
| 4M          | 19.7                   | Digital = 60.9; Thermometer = 75                | 67         | 547 × 1             |
| 5M          | 19.7                   | Digital = 60.9; Thermometer = 75                | 67         | 547 × 1             |
| 6M          | 18.7                   | Digital = 52.15; Thermometer = 45               | 69         | 1065 × 1000         |
| 7M          | 18.7                   |                                                 | 69         | 1378 × 1            |
| 8M          | 18.7                   |                                                 | 69         | 1065 × 1000         |
| 9M          | 18.7                   | Digital = 52.15; Thermometer = 45               | 69         | 1065 × 1000         |
| 10M         | 18.7                   |                                                 | 69         | 1378 × 1            |
| 11M         | 18.7                   |                                                 | 69         | 1065 × 1000         |
| 12M         | 18.7                   | Digital = 52.15; Thermometer = 45               | 69         | 1065 × 1000         |
| 13M         | 18.7                   |                                                 | 69         | 1378 × 1            |
| 14M         | 18.7                   |                                                 | 69         | 1065 × 1000         |
| 15M         | 18.7                   | Digital = 52.15; Thermometer = 45               | 69         | 1378 × 1            |
| 16M         | 18.7                   | Digital = 52.15; Thermometer = 45               | 69         | 1065 × 1000         |
| 17M         | 14.3                   |                                                 | 67         | 1382 × 1000         |

Table 5- 8: Different parameters measured on the sites, for moss samples.

Soils throughout the geothermal area are considered poor for growth of most plants because of their low pH, infertility, and unusually high levels of trace elements [111]. The ability of geothermal plant communities to grow in nutrient-poor soils with toxic levels of some elements is interest for us.

One of the advantageous features of PEDXRF techniques is the possibility of performing analysis directly on solid samples, which usually implies simpler sample preparation with considerable reduction in usage of reagents [116]. Most the samples analyses by PEDXRF spectrometry done as pellets form with diameter 25mm, and one sample as powder, in sample cup 10mm.

The highest five concentration trace elements found on the fern samples are Si, Al, Fe, K and Ca; details for the concentrations shown in the figures 5-1 to 5-9; every fern species have unique ability to collect specific elements; no species of fern have ability to accumulate all the elements with high concentrations, and its consider disadvantage on the hyper-accumulator plants to use in cleanup of the soil from inorganic elements. In support of this, 14F sample shown ability to accumulate Mn; while, 16F shown unique ability to accumulate Ta and Co.

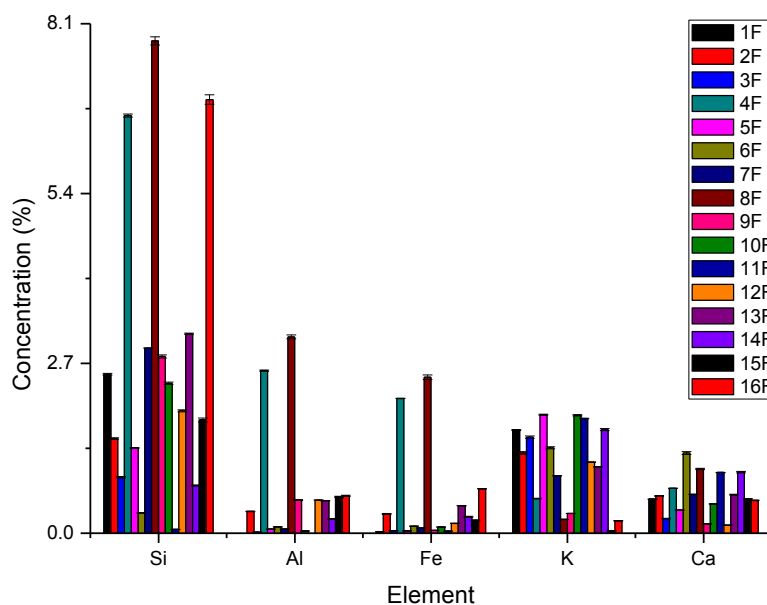


Figure 5- 1: Trace element comparison for different fern samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Si, Al, Fe, K and Ca.

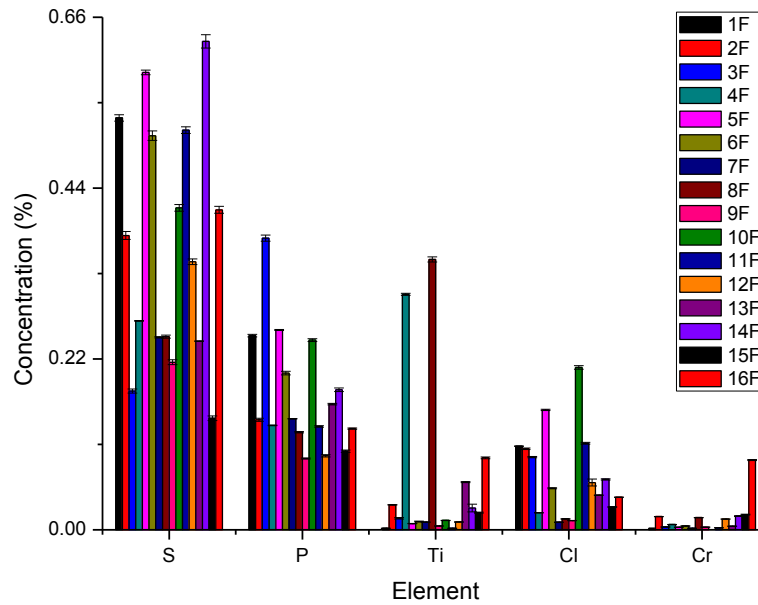


Figure 5- 2: Trace element comparison for different fern samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements S, P, Ti, Cl and Cr.

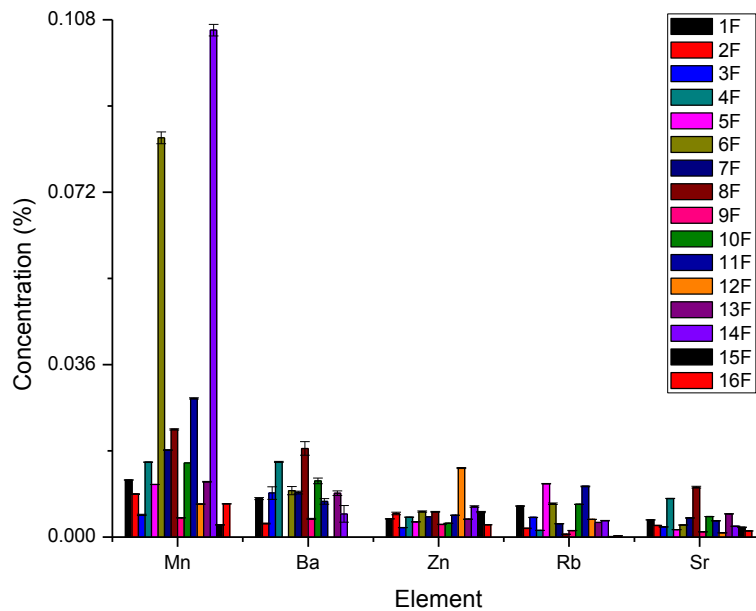


Figure 5- 3: Trace element comparison for different fern samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Mn, Ba, Zn, Rb and Sr.

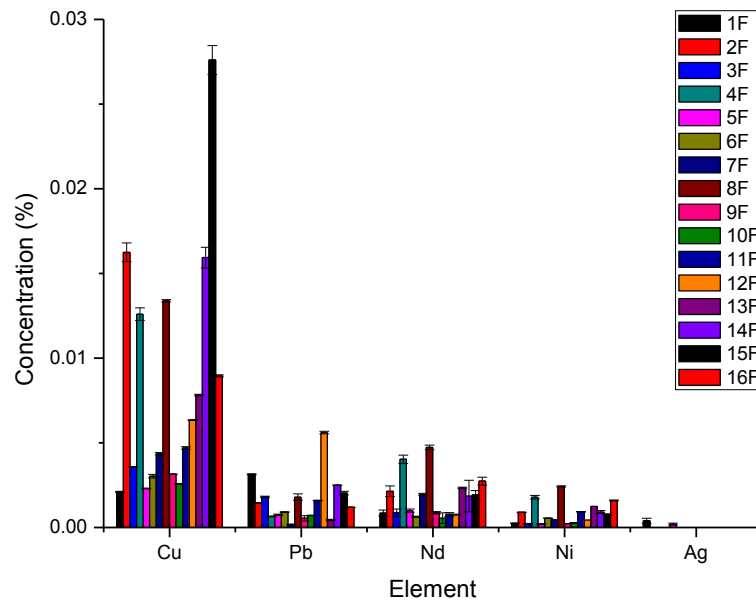


Figure 5- 4: Trace element comparison for different fern samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Cu, Pb, Nd, Ni and Ag.

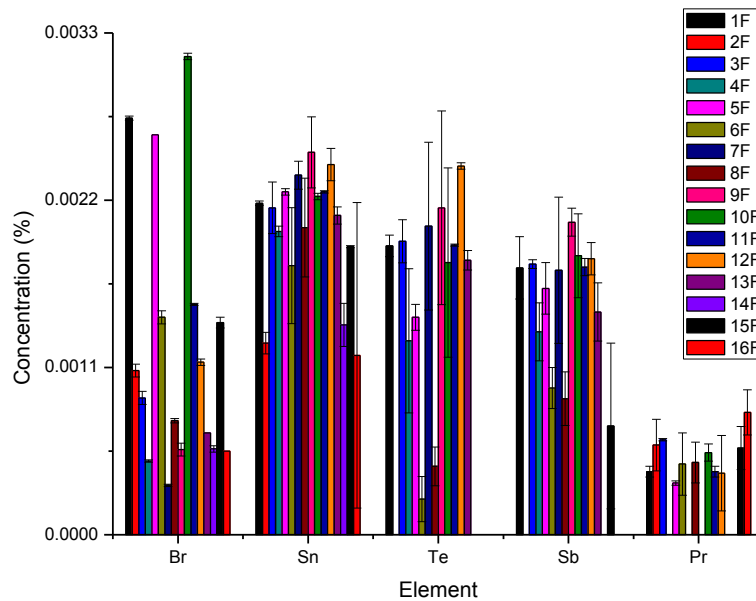


Figure 5- 5: Trace element comparison for different fern samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Br, Sn, Te, Sb and Pr.

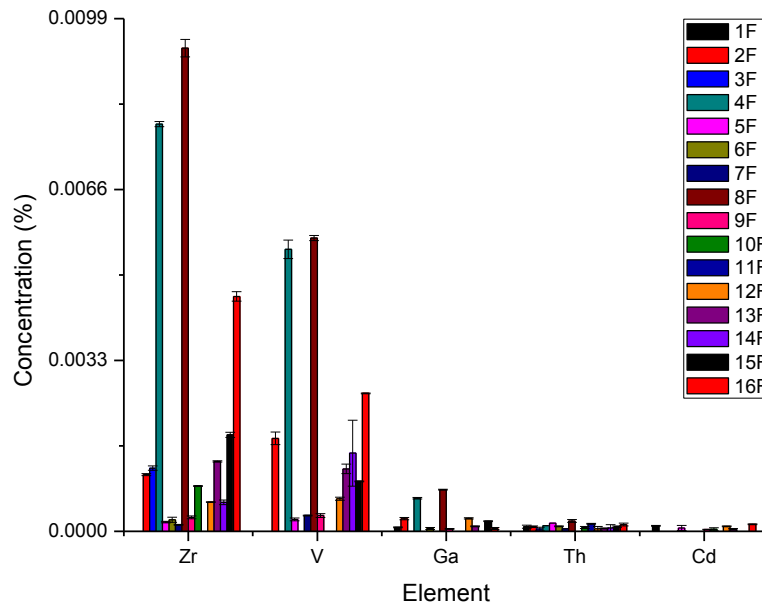


Figure 5- 6: Trace element comparison for different fern samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Zn, V, Ga, Th and Cd.

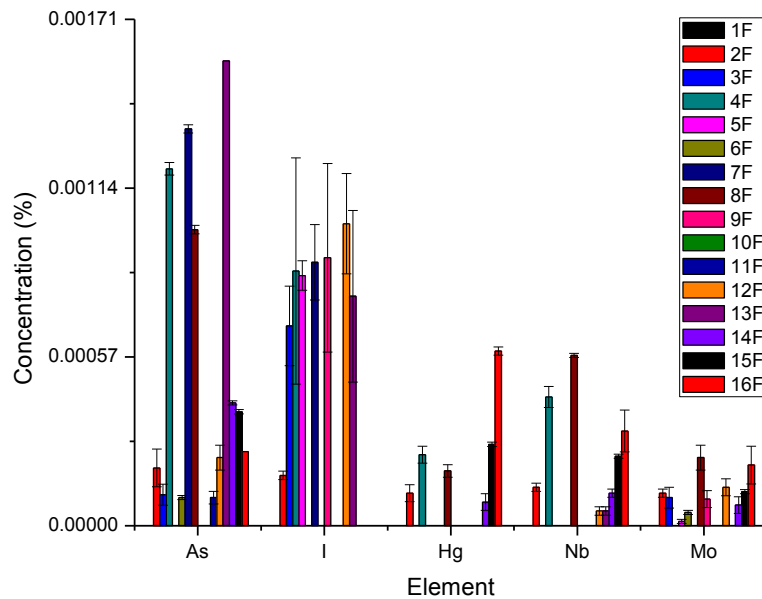


Figure 5- 7: Trace element comparison for different fern samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements As, I, Hg, Nb and Mo.



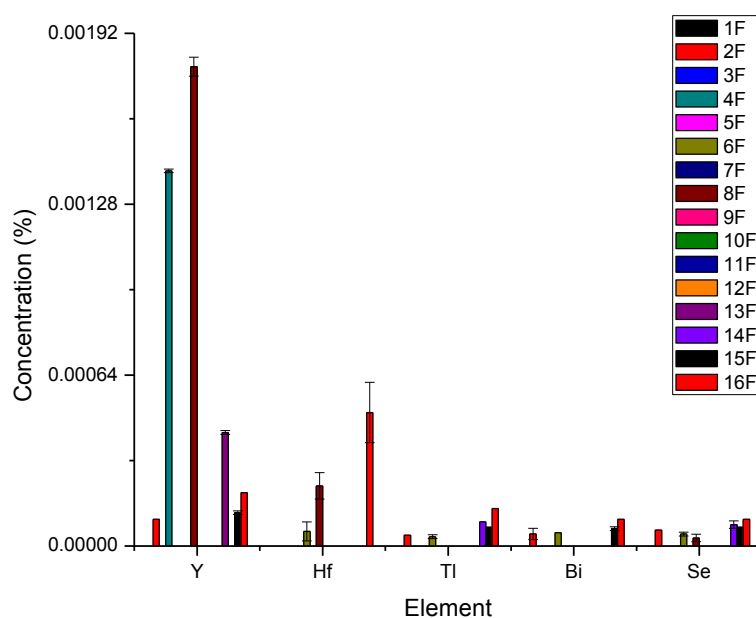


Figure 5- 8: Trace element comparison for different fern samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Y, Hf, Tl, Bi and Se.

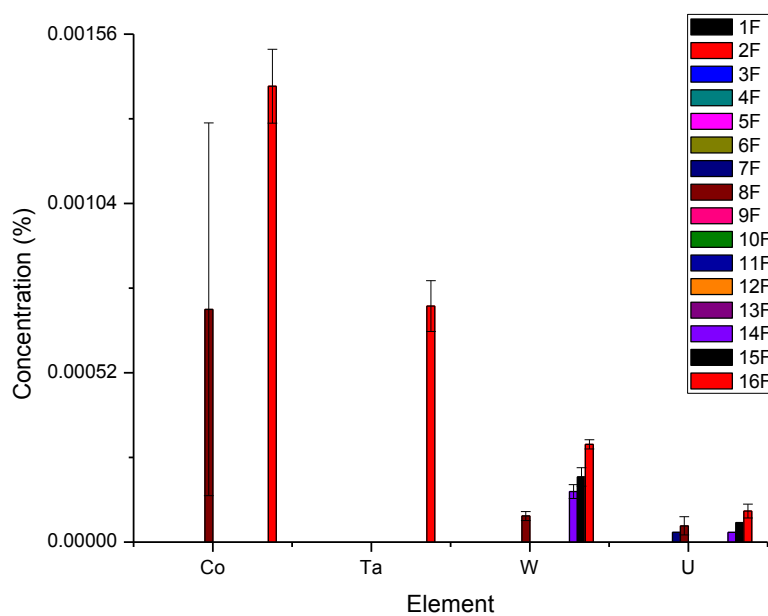


Figure 5- 9: Trace element comparison for different fern samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Co, Ta, W and U.

The highest five concentration trace elements found on the moss samples are Si, Al, Fe, Ca and S; details for the elements concentration shown in the figures 5-10 to 5-18; every moss species has unique ability to collect specific elements, no species of moss has ability to collect all the elements with high concentrations. Interestingly, mosses have higher concentration in some trace elements compared with the ferns (e.g. Si, Al, Fe etc.).

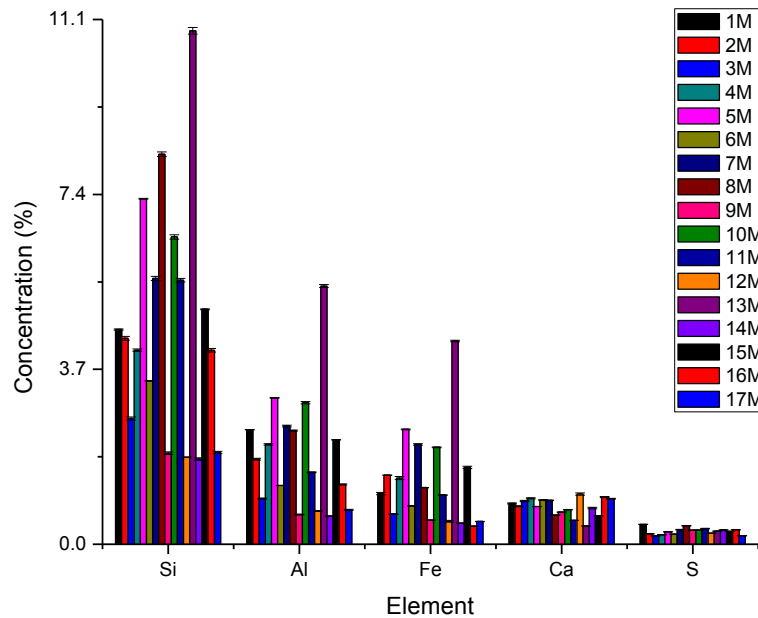


Figure 5- 10: Trace element comparison for different moss samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Si, Al, Fe, Ca and S.

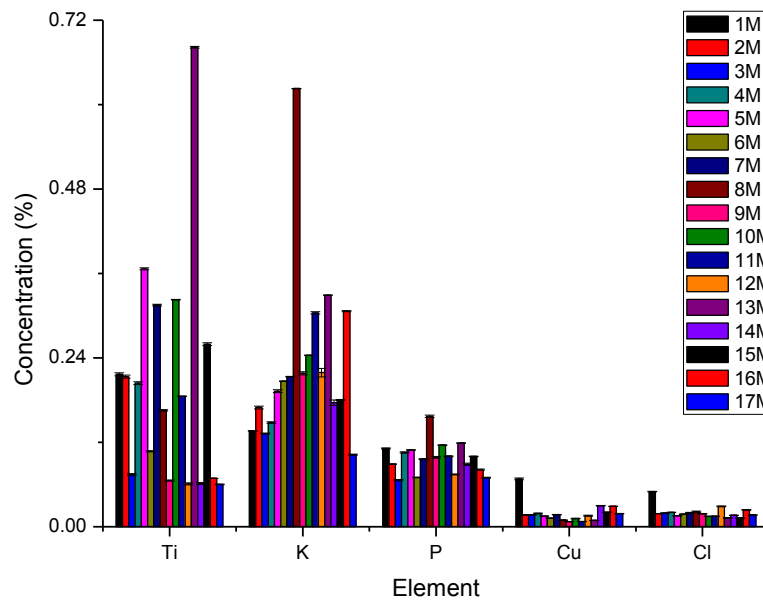


Figure 5- 11: Trace element comparison for different moss samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Ti, K, P, Cu and Cl.

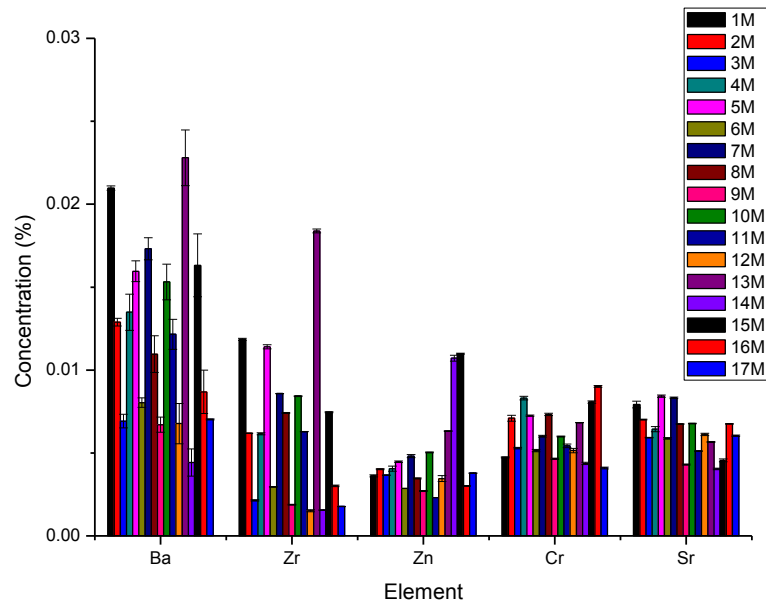


Figure 5- 12: Trace element comparison for different moss samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Ba, Zr, Zn, Cr and Sr.

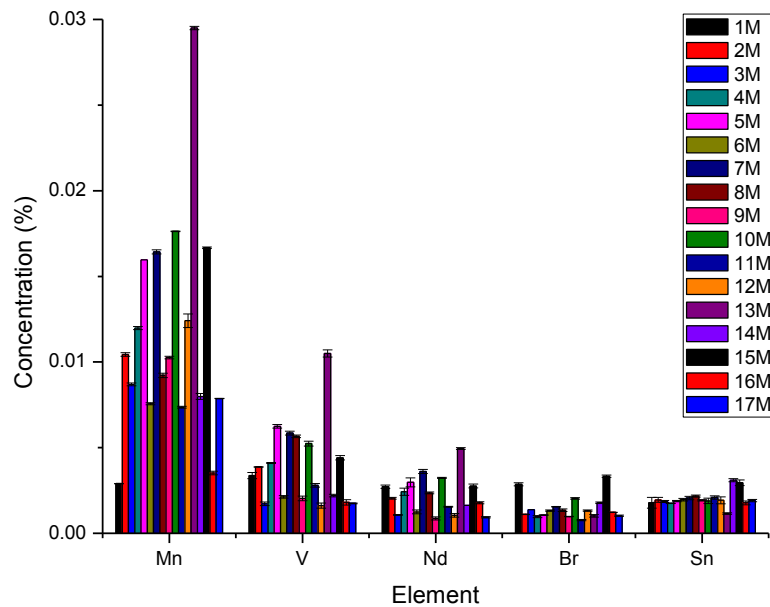


Figure 5- 13: Trace element comparison for different moss samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Mn, V, Nd, Br and Sn.

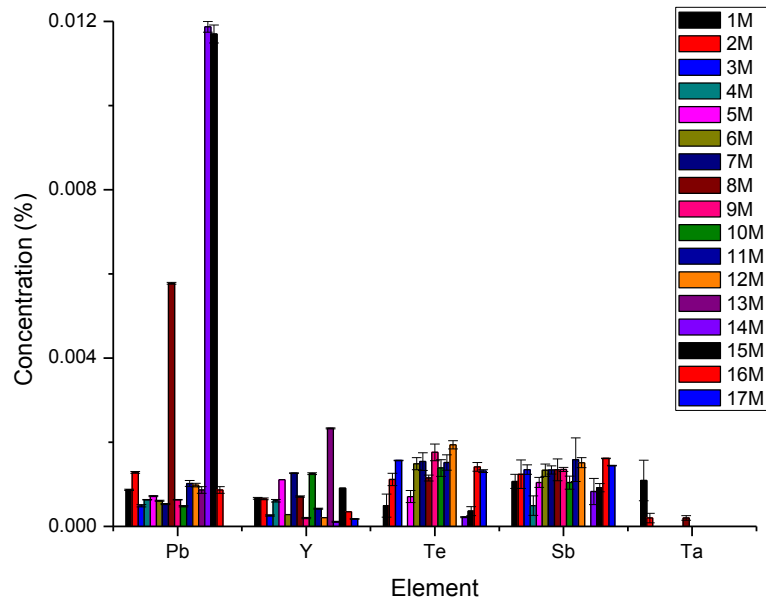


Figure 5- 14: Trace element comparison for different moss samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Pb, Y, Te, Sb and Ta.

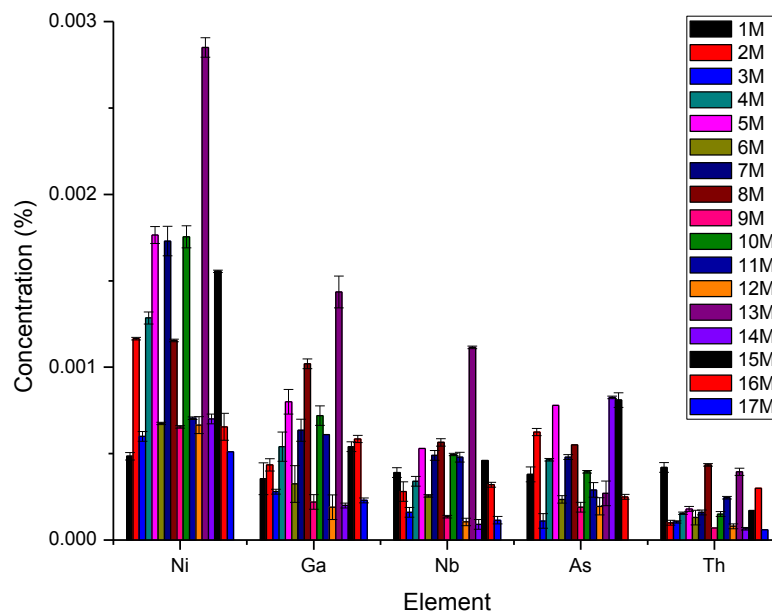


Figure 5- 15: Trace element comparison for different moss samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Ni, Ga, Nb, As and Th.

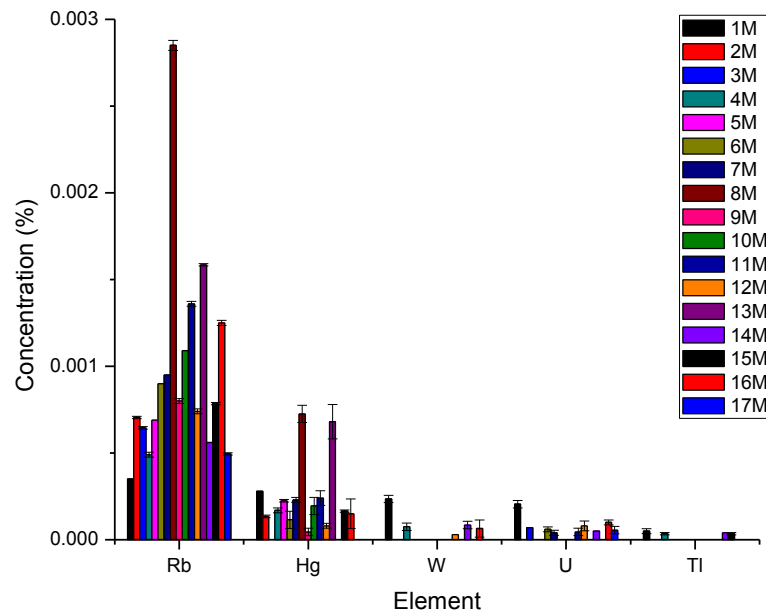


Figure 5- 16: Trace element comparison for different moss samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Rb, Hg, W, U and Tl.

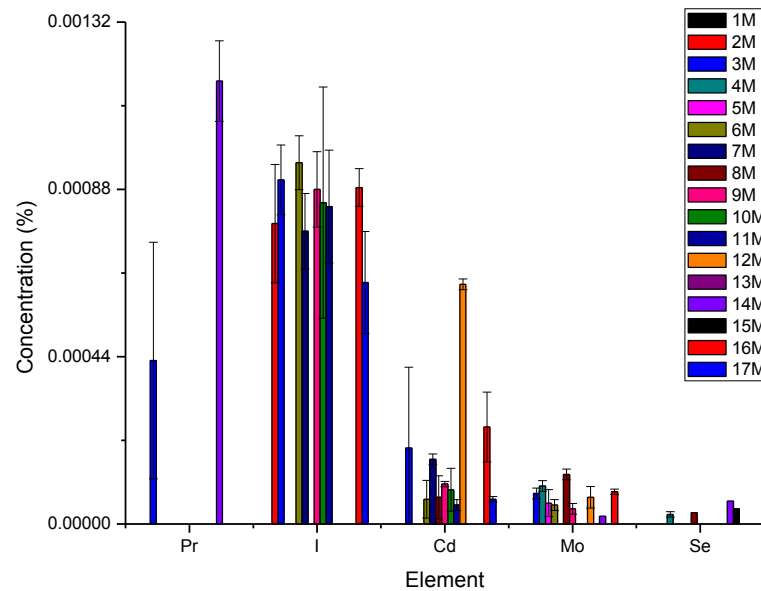


Figure 5- 17: Trace element comparison for different moss samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Pr, I, Cd, Mo and Se.

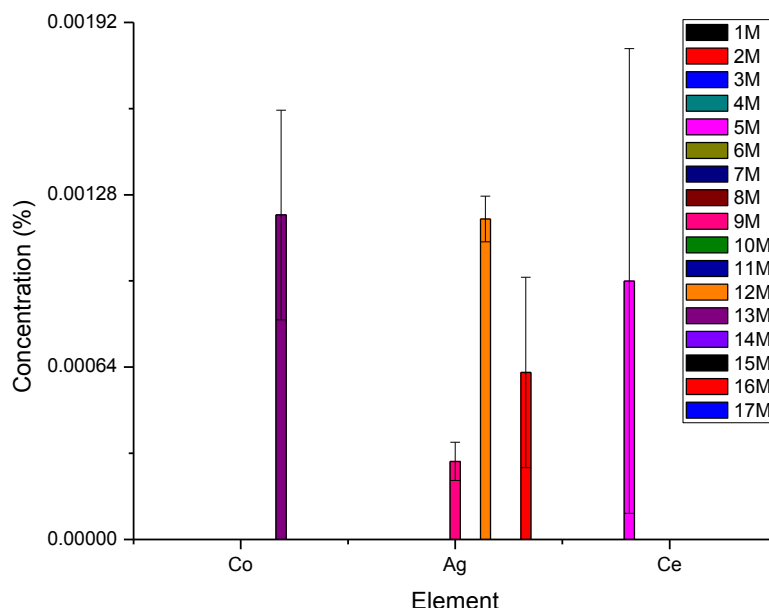


Figure 5- 18: Trace element comparison for different moss samples locations with the same elements, by using PEDXRF, elements Co, Ag and Ce.

The elements have been found in fern samples more than in the moss samples; forty four elements have been found in fern samples, while in the moss samples have been found forty three elements; the elements have been found in the fern samples classified according to the concentrations are: Si, Al, Fe, K, Ca, S, P, Ti, Cl, Cr, Mn, Ba, Zn, Rb, Sr, Cu, Pb, Nd, Ni, Ag, Br, Sn, Te, Sb, Pr, Zr, V, Ga, Th, Cd, As, I, Hg, Nb, Mo, Y, Hf, Tl, Bi, Se, Co, Ta, W, and U; while, in the moss samples are Si, Al, Fe, Ca, S, Ti, K, P, Cu, Cl, Ba, Zr, Zn, Cr, Sr, Mn, V, Nd, Br, Sn, Pb, Y, Te, Sb, Ta, Ni, Ga, Nb, As, Th, Rb, Hg, W, U, Tl, Pr, I, Cd, Mo, Se, Co, Ag and Ce. Indeed, the elements have been found in the fern samples and not found in the moss samples are Hf and Bi; while, found in moss samples not in fern sample is Ce. In fact, the elements classification according to the concentrations is different between fern and moss samples, and it's different between every sample in fern or moss; even inside the fern samples the trace elements concentration different between roots, leaves and stems.

Si, Al, Fe, Ti and Zr have been found in highest amount on one moss sample 13M and one fern sample 8F; furthermore, moss sample 13M and fern sample 8F shown great ability to concentrate all those elements with highest concentrations; Si concentration in 13M=  $1.0860 \times 10^1 \pm 7.0711 \times 10^{-2} \%$  and 8F=  $7.8270 \pm 6.5054 \times 10^{-2} \%$ ; Al concentration in 13M=  $5.4625 \pm 2.8991 \times 10^{-2} \%$  and 8F=  $3.1215 \pm 3.0406 \times 10^{-2} \%$ ; Fe concentration in 13M=  $4.2995 \pm 1.7678 \times 10^{-2} \%$  and 8F=  $32.4805 \pm 3.6062 \times 10^{-2} \%$ ; Ti concentration in 13M=  $6.8155 \times 10^{-1} \pm 1.3435 \times 10^{-3} \%$  and 8F=  $3.4820 \times 10^{-1} \pm 3.2527 \times 10^{-3} \%$ ; and Zr concentration in 13M=  $61.8385 \times 10^{-2} \pm 1.2021 \times 10^{-4} \%$  and 8F=  $9.3300 \times 10^{-3} \pm 1.6971 \times$

$10^{-4}$  %. Interesting chemical trace elements concentration found in moss and fern samples, i.e. S, Pb, As, Hg and U; S concentration in 14F =  $6.2885 \times 10^{-1} \pm 8.5560 \times 10^{-3}$  % and 1M =  $4.1950 \times 10^{-1} \pm 1.6971 \times 10^{-3}$  %; Pb concentration in 14M =  $1.1870 \times 10^{-2} \pm 1.2728 \times 10^{-4}$  % and 12F =  $5.6050 \times 10^{-3} \pm 7.7782 \times 10^{-5}$  %; As concentration in 13F =  $1.5700 \times 10^{-3} \pm 0$  % and 14M =  $8.2500 \times 10^{-4} \pm 7.0711 \times 10^{-6}$  %; Hg concentration in 8M =  $7.2500 \times 10^{-4} \pm 4.9497 \times 10^{-5}$  % and 16F =  $5.9000 \times 10^{-4} \pm 1.4142 \times 10^{-5}$  %; and U concentration in 1M =  $2.0500 \times 10^{-4} \pm 2.1213 \times 10^{-5}$  % and 16F =  $9.5000 \times 10^{-5} \pm 2.1213 \times 10^{-5}$  %. Every species of fern or moss have ability to accumulate specific element or more than one element; however, the age of the fern or moss is important to determine the ability for accumulate elements, in our work, we couldn't determine the age for fern and moss samples.

ICP-OES done for most fern and moss samples; further, all moss samples analysis by ICP-OES; while, most fern samples analysis by ICP-OES, the small amount of biomass and weight (>1g) for root and rare fern species limited the ability to do more analysis. The chemical trace elements chosen for analysis are: Al, Fe, K, S, P, B and Pb; most of the elements chosen are important nutrients for the plants; while, Al and Pb are not considered nutrient; details shown in figure 5-19 and 5-20. Correlation, in the previous chapter soil, sediment and water samples analyses by ICP-OES and Pb not found, but in two moss samples it found Pb and not found in fern samples.

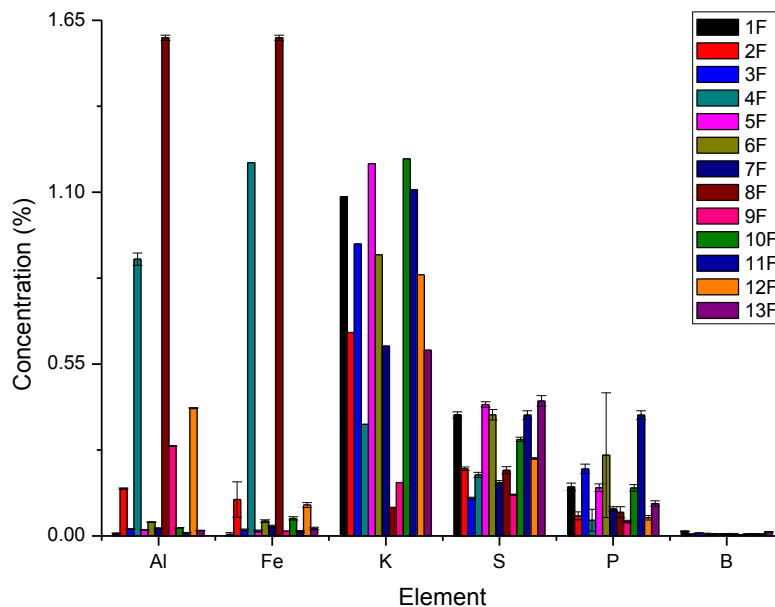


Figure 5- 19: Trace element comparison for different fern samples locations with the same elements, by using ICP-OES, elements Al, Fe, K, S, P and B.

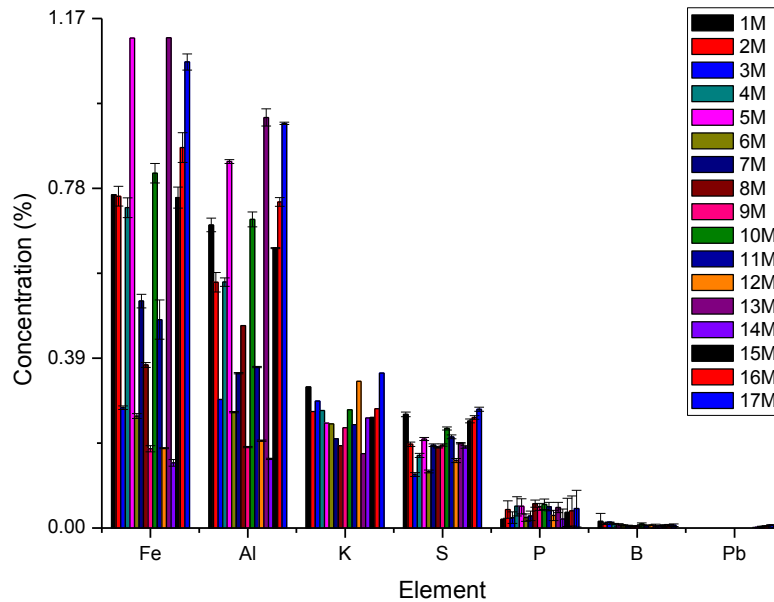


Figure 5- 20: Trace element comparison for different moss samples locations with the same elements, by using ICP-OES, elements Fe, Al, K, S, P, B and Pb.

There is a fundamental difference between plant material and animal organic or soil or sediment matrices; plant tissue samples mainly consist of carbon, hydrogen, oxygen and nitrogen. Other abundant components are K, Mg, Ca, P and S (macronutrient); those elements found in comparatively high concentrations in plants and it's measured in percent (%). These five elements account for less than 10% of a sample on a dry weight basis. In fact, acid digestion method for ICP-OES is incomplete for plants tissues. Ratio (ICP-OES/PEDXRF) of concentration comparison for different fern and moss samples locations with the same elements shown in figures 5-21 and 5-22.

As a result, ratio (ICP-OES /PEDXRF) of concentration gave difference between ICP-OES and PEDXRF. Elements closely associated with siliceous materials such as Al, Fe and Na may not be completely released from solid material to solution. Therefore, the results by ICP-OES may not be directly comparable to the results by PEDXRF; PEDXRF methods analysis total concentration of the analysis samples without need digested for the samples; whereas, ICP-OES methods analysis the elements on the digested acid. However, this problem might be significant only in limited cases; in our work, there is not a good compatibility between PEDXRF and ICP-OES.



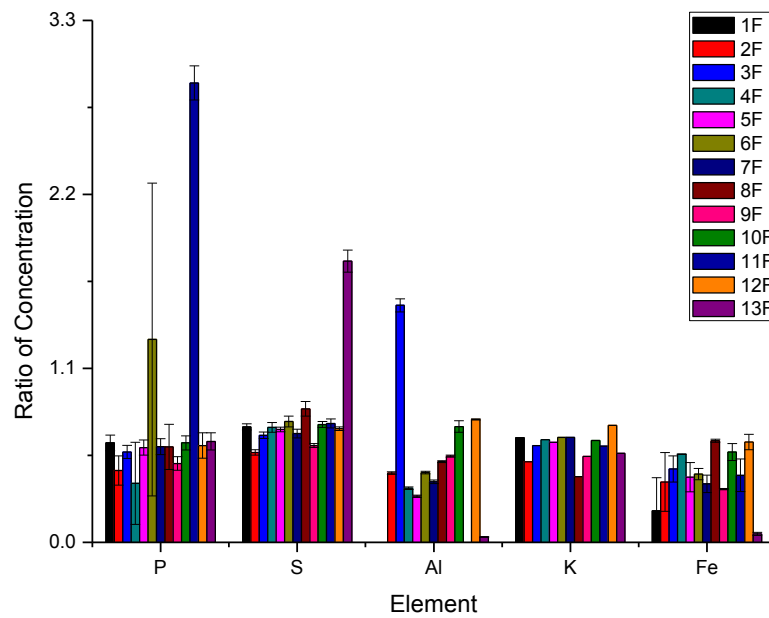


Figure 5- 21: Ratio (ICP-OES/PEDXRF) of concentration comparison for different fern samples locations with the same elements, elements P, S, Al, K and Fe.

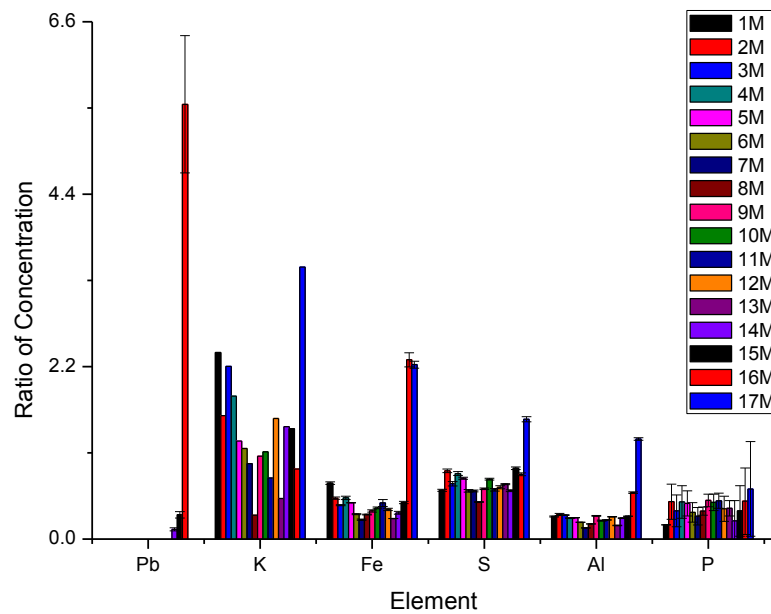


Figure 5- 22: Ratio (ICP-OES/PEDXRF) of concentration comparison for different moss samples locations with the same elements, elements Pb, K, Fe, S, Al and P.

## 5.4. CONCLUSIONS

The optimized PEDXRF analyses were verified for the determination of different major and trace elements for fern and moss samples. The combination of selective excitation (using different and suitable secondary targets) and reduction of the background of x-ray spectra. When using polarized x-ray beam EDXRF (PEDXRF) instrumentation leads to a significant improvement in the sensitivity for trace elements in vegetal samples.

The simplicity of sample preparation makes PEDXRF a promising technique in the phytoremediation field. In fact, analytical procedures for elemental determination in plant tissues are fast, cheap, with simple sample preparation, high accuracy and reproducibility.

ICP-OES is a very accurate and powerful method analyzing liquid samples. However, incomplete acidic digestion reduces the concentration of trace elements available in the vegetal samples. ICP-OES preparation samples are more complex compared with the PEDXRF. The main disadvantage for the PEDXRF compared with the ICP-OES is the need of a big mass compared with the ICP-OES.

An element found in the hyper-accumulator plants, i.e. Pb present in few moss samples, while there is none on soil, sediment, water and fern samples by using ICP-OES.

Hyper-accumulator plants promise to be a new technique for cleaning-up the environment. Although phytoremediation works effectively for a wide range of inorganic pollutants, the underlying biological processes are still largely unknown in many cases. Unfortunately, we know very little about the plant mechanisms (biological) involved in phytoremediation, and it's still an emerging field research that needs understanding of hyper-accumulator plants.

Biomass, root limitation and accumulate specific elements are limited the hyper-accumulator plants to clean up the environment. Some important processes that require further study are plant-microbe interactions and effects of chelates on the plants and soil microbial community. Fortunately, our understandings about the hyper-accumulator plants are increasing with the time.

Geothermal conditions mimic those of the early Earth. The plants changed the Earth's conditions to be habitable; these kinds of plants that live on hot springs and fumaroles mimic the primitive plants that existed on the early Earth. Extreme ecological condition (i.e. high temperature, low pressure, variable relative humidity, and presence of unusual atmospheric gases i.e. H<sub>2</sub>S, SO<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, He, etc.) near to the hot springs and fumaroles all these mimic the early Earth.

## CHAPTER 6: CONCLUSIONS

Pellets yielded gave the best accuracy factor and precision compared to the powder samples; pellet diameter 25mm has been given the best accuracy factor and precision compared to other pellet and sample cup diameters; binder in pellets depreciates the accuracy factor; binder (made from light elements) increases the thickness and scattering; the main disadvantage of pellets are time consuming. Sample cup diameter 15mm has been given the best accuracy factor and precision compared to other sample cup diameters; furthermore, sample cup 15mm (powder) gave better accuracy than pellet with wax (or binder).

The main advantage in PEDXRF methods are the ability to analyses the powder samples. The simplicity of sample preparation makes PEDXRF a promising technique in the environmental field. Indeed, analytical procedures for elemental determination in plant tissues should be fast, cheap, with simple sample preparation, and of adequate accuracy and reproducibility.

The optimized PEDXRF analyses were verified for the determination of different major and trace elements for fern and moss samples. The combination of selective excitation (using different and suitable secondary targets) and reduction of the background of x-ray spectra. When using polarized x-ray beam EDXRF (PEDXRF) instrumentation leads to a significant improvement in the sensitivity for trace elements in vegetal samples.

The future expectation is improvements in XRF instrumentation could increase instrumental sensitivity, so that XRF spectrometry could offer new possibilities in the environmental and industrial fields in the years ahead.

Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectrometry (ICP-OES) is one of the most powerful and popular analytical tools for the determination of trace elements in a myriad of sample types. The instrumentation associated with an ICP-OES system is relatively simple [102].

ICP-OES analysis requires a sample to be in solution; this can be achieved either by a combined acid attack employing HF, HNO<sub>3</sub>, and HCl acids. The acid digestion procedure also often results in incomplete analysis of refractory elements such as Ti, Cr, and Zr because their host minerals are often difficult to dissolve [43]. Elements closely associated with siliceous materials such as Al, Fe and Na may not be completely released from solid

material to solution. Incomplete acid digestion reduces the concentration of trace elements available in the vegetal samples.

PEDXRF methods do not compare directly with the ICP-OES methods; PEDXRF methods analysis total amounts of the analyte, whereas ICP-OES methods analysis only the components labile in nitric acid or adsorb or mobile elements of the analyte. ICP-OES methods analysis the adsorb elements on the soil and sediment samples. ICP-OES has a great advantage in measuring liquid samples, and that ability consider the most important advantage of ICP-OES methods.

The areas near to the fumaroles and hot springs have higher concentration of trace elements in soil, sediment and water compared with other areas. Every site has different trace elements concentration, that unique ability enriches the plants and animals life. Unique properties of trace element composition in fumaroles and hot springs provide necessary nutrient and fertilizer to the plants. Fumaroles and hot springs is necessary for enrich natural life for the plants and animals.

Soils throughout the geothermal areas are considered poor for growth of most plants because of their low pH, infertility, and unusually high levels of trace elements [111]. The ability of geothermal plant communities to grow in nutrient-poor soils with toxic levels of some elements is very interest.

Hyper-accumulator plants take up particularly high amounts of a toxic substance, usually a metal or metalloid, in their shoots during normal growth and reproduction. The metal/metalloid concentration that must be accumulated by the plant before it is designated a hyper-accumulator plant depends upon the particular metal or metalloid in question. However, hyper-accumulators refers to the natural ability of certain plants describing a highly abnormal level of metal accumulation, even some metals that do not appear to be required for plant functioning [69]. Hyper-accumulator plants are conventionally defined as species capable of accumulating metals at levels 100-fold greater than those typically measured in common non-accumulator plants [122]. Most hyper-accumulator plant species are able to accumulate between 1-5% of their biomass as metal [123].

Hyper-accumulator plants are taxonomically widespread throughout the plant kingdom. Hyper-accumulator plants promise to be a new technique for cleanup the environment; although phytoremediation works effectively for a wide range of inorganic pollutants. As stated, we found Hyper-accumulator plants in Los azufres; for instance, in soil, sediment, water and fern samples we couldn't find Pb by used ICP-OES, but Pb has been found on two moss samples, that mean these two mosses have ability to accumulate Pb even if the soil haven't or have in ultra-trace element from the Pb. These results shown us the great ability for hyper-accumulator plants, these plants could be very useful to clean

up the environment, and gathering the valuable elements. Every fern and moss has ability to collect specific one or more element.

Biological processes are still largely unknown in many cases for hyper-accumulator plants. Some important processes that require further study are plant-microbe interactions and effects of chelates on the plants and soil microbial community, plant degradation mechanisms for organics, and plant transport and chelation mechanisms for inorganics. Anyway, our understanding for the hyper-accumulator plants increasing with the time.

Geothermal conditions mimic those of the early Earth. The plants changed the Earth's conditions to be habitable; these kinds of plants that live on hot springs and fumaroles mimic the primitive plants that existed on the early Earth. Extreme ecological condition (i.e. high temperature, low pressure, variable relative humidity, and presence of unusual atmospheric gases i.e.  $H_2S$ ,  $SO_2$ ,  $CO_2$ , He, etc.) near to the hot springs and fumaroles all these mimic the early Earth.

## APPENDIX

### APPENDIX 1: SPECTRO XEPOS III

Polarization Energy Dispersive X-Ray Fluorescence (PEDXRF) spectrometry is used routinely for investigation of a wide variety of materials such as minerals, soil, rocks, slags, ceramics, metals, alloys, food, pharmaceuticals, fuels etc., and X-Ray Fluorescence, XRF instruments are finding increased use in environmental studies. Advantages include easy sample preparation and instrument operation, which make the technique also convenient for applications [80 and 124]. Indeed, PEDXRF could analyze the solid samples without need to be in liquid form or digested. Thus XRF is become the universal tool in analytical laboratories. There is virtually no industry or application field where it isn't worthwhile to consider the use of the XRF analysis technique.

XRF spectrometry is a common tool for highly accurate, precision and reproducible non-destructive element analysis [77 and 21]; the method is using routinely for high resolution analysis [77]. One of the most important advantages of PEDXRF is the simultaneous analysis of elements from Na up to U; the primary radiation scattered at the sample is recorded simultaneously with the fluorescence signal. In practice, the sample is excited several times. The sensitivities and detection limits obtained with direct excitation could be improved up to an order of magnitude by using polarized radiation for the excitation of traces in light matrices. The phenomenon of polarization, first examined by Barkla, has been used and continuously improved since the beginning of the 70's [27].

The features for SPECTRO XEPOS III, Spectro Analytical Instruments GmbH, Kleve, Germany consist (figure A-1) of x-ray tube made from Pd (Palladium) maximum 50 Watt, voltage 50kV, focal spot 1mm<sup>2</sup>, high performance Silicon Drift Si(Li) Detector (SDD) with Peltier cooling (electrically cooling), 8 secondary targets: Mo, Co, Zn, Zr, Pd, CsI, HOPG (Highly Oriented Pyrolytic Graphite) and Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Aluminum Oxide) and the system flushed (or purge) by He.

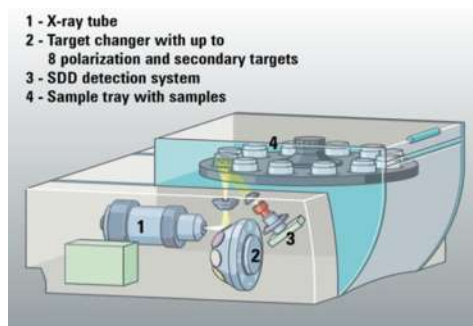


Figure A- 1: The principle for SPECTRO XEPOS III and main parts; orthogonal x-ray tube, secondary target, sample and detector arrangement to produce polarized x-ray.

## APPENDIX 2: TURBOQUANT

TURBOQUANT is brand name for a SPECTRO method that is used for screening analysis. The method is able to analyze the elements from Na to U in completely unknown samples. This means that all matrix effects which will occur are taken into account; the only distinction is made between solids (powder and pellets), liquids and alloys; there is a separate program for each [User's manual SPECTRO XEPOS III].

PEDXRF spectrometer permits direct (standard-less) analysis through the fundamental parameters routine. Improvements in analytical software based on the fundamental parameters approach have meant that accuracies and precisions have also improved for standard-less analysis [User's manual SPECTRO XEPOS III].

TURBOQUANT use of a combination targets consisting of an HOPG (Highly Oriented Pyrolytic Graphite) Bragg crystal,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  Barkla scatterer and secondary target Mo for the excitation of the elements Na to U [27]. The excitation of all the elements Na-U is split into three single measurements using different targets. The light elements Na-V are excited using a HOPG target (intense monochromatic polarized x-rays). The elements Cr-Zr and Pr-U are excited using a Mo secondary target (intense monochromatic non polarized x-rays). The high energy elements Y-Ce are excited using a Barkla  $\text{Al}_2\text{O}_3$  target (intense polychromatic polarized x-rays) [User's manual SPECTRO XEPOS III].

### APPENDIX 3: MIXER MILL MM 400

XRF is a powerful technique, but that requires a sample is fully representative and ground to the correct particle size ( $< 100 \mu\text{m}$ ) using methods that neither changes the characteristics of the material nor adds unwanted trace elements.

The reproducibility of solid samples depends directly on the particle size and density of the prepared sample. In XRF, the intensity of the scattered x-rays is an indicator for the quantity of an element. If the sample is too coarse, the x-rays are strongly scattered by the particles which leads to an increase of the intensity regardless of the actual quantity of the element. Therefore, it is of great importance for reproducible quantitative analysis that the required degree of homogenization is achieved and the size distribution remains constant from sample to sample.

Mixer Mills MM 400, Retsch GmbH, Haan, Germany (figure A-2) has been developed specially for grinding, homogenizing and mixing of small sample amounts quickly and efficiently. Further, it is providing ability to produce precise, reproducible and contamination free samples for XRF with a minimum time and effort. Furthermore, it is operating so effectively that the sample is hardly warmed at all due to the very short grinding time. Thus most materials can be pulverized and mixed at ambient temperature, without any cooling. The vibrational intensity can be set accurately from 3 to 30 hertz (Hz); with a vibrational frequency of 30 Hz grinds most materials very effectively in a few minutes. Consequently, high sample throughput due to short grinding times [User's manual Mixer Mill MM 400].



Figure A- 2: Mixer Mills MM 400.

Mixer Mill MM 400 can be equipped with grinding tools of various materials allowing for sample preparation without contamination with regards to the elements to be



determined. In addition, large range capacity of grinding jars available with different ball diameters [User's manual Mixer Mill MM 400].

The grinding jars perform oscillations in a horizontal position (figure A-3). The inertia of the grinding balls causes them to impact with high energy on the sample material at the rounded ends of the grinding jars and pulverizes it. Also, the movement of the grinding jars combined with the movement of the balls result in the intensive mixing of the sample [User's manual Mixer Mills MM 400].



**Figure A- 3: Oscillations in a horizontal position for balls and grinding jars.**

**APPENDIX 4: SIEVE**

Sieve, defined (figure A-4) as utensil of wire mesh or closely perforated metal, used for sifting [125 and 126]. A sieve separated large or coarser particles out from a small or fine particles or liquids. Sieving is a simple and convenient technique of separating particles of different sizes [127].



Figure A- 4: Different sieve holes sizes.

**APPENDIX 5: MORTAR AND PESTLE**

The mortar is a bowl, typically made of ceramic (figure A-5). The pestle is a heavy club-shaped object, the end of which is used for crushing and grinding. The substance to be ground is placed in the mortar and ground, crushed or mixed with the pestle. Good mortar and pestle must be hard enough to crush the substance rather than be worn away by it. They cannot be too brittle either, or they will break during the pounding and grinding. The material should also be cohesive, so that small bits of the mortar or pestle do not get mixed in with the ingredients. Smooth and non-porous materials are chosen that will not absorb or trap the substances being ground [128].



Figure A- 5: Mortar and pestle.

**APPENDIX 6: HOW DOES THE HYDRAULIC PRESS WORK?**

A hydraulic press (figure A-6) is a machine using a hydraulic cylinder to generate a compressive force [129]; hydraulic press used for various purposes such as powder compacting etc. Since the hydraulic press works on the basis of Pascal's law: the pressure throughout a closed system is constant. A hydraulic press consists of basic components used in a hydraulic system that includes the cylinder, pistons, hydraulic pipes, etc. The working of this press is very simple. The system comprises of two cylinders (figure A-7), the fluid (usually oil) is poured in the cylinder having a small diameter. This cylinder is known as the slave cylinder [129 and 130].



Figure A- 6: Hydraulic press.

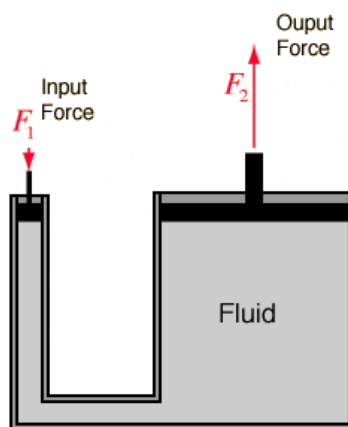


Figure A- 7: Principle of hydraulic press.

The piston in this cylinder is pushed so that it compresses the fluid in it that flows through a pipe into the larger cylinder. The larger cylinder is known as the master cylinder. The pressure is exerted on the larger cylinder and the piston in the master cylinder pushes the fluid back to the original cylinder [130].

A fluid, such as oil, is displaced when either piston is pushed inward. The small piston, for a given distance of movement, displaces a smaller amount of volume than the large piston, which is proportional to the ratio of areas of the heads of the pistons. Therefore, the small piston must be moved a large distance to get the large piston to move significantly. The distance of the large piston will move is equal the distance that the small piston is moved divided by the ratio of the areas of the heads of the pistons. This is how energy, in the form of work in this case, is conserved and the law of conservation of energy is satisfied. Work is force, times, and distance, and since the force is increased on the larger piston, the distance of the force is applied over must be decreased [129].

The force applied on the fluids by the smaller cylinder results in a larger force when pushed in the master cylinder. This allows the lifting of a heavy load with a small force [130].

**APPENDIX 7: PRODUCTION OF PELLETS**

For most XRF applications pellets with a plane surface are used (figure A-8). In contrast to loose powder, a pellet has the advantage that the element concentration detected by the x-ray is higher because the material is more compact. In addition, a smooth surface is preferable to a rough one from an optical point of view. Usually, pellets are either produced by fusion of the sample with salt or by pressing the sample. Fusion of the sample with lithiumtetraborate is a very effective method of producing a bead; fusing is not used when volatile elements are to be analyzed that could evaporate during the fusion process.



Figure A- 8: Pellet.

When the sample material does not bond properly, adding of binding agents such as wax is often required (figure A-9 and A-10). Wax is added after the sample has been ground, either manually (mortar and pestle) or by mixing it with the help of polyamide balls in a plastic jar in the Mixer Mill MM 400. The addition of wax makes the pellet's surface indelible. Moreover, wax is more inexpensive and not hygroscopic which is important if the pellets are to be stored.



Figure A- 9: Procedure to make pellet without wax.

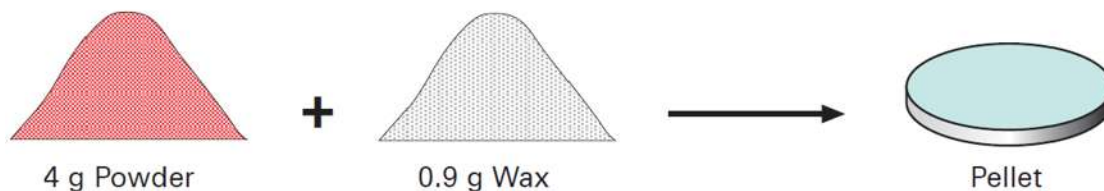


Figure A- 10: The procedure to make pellet with wax.

A sampling die (figure A-11) and press (figure A-6) for compaction of a powder sample are disclosed. The invention also includes a press adapted for compacting a powder sample contained within the mold cavity of a die which serves both as a sampling container for the powder and as a mold for compaction of the powder.



Figure A- 11: Die 25mm.

## APPENDIX 8: MOSS

Moss (figure A-12) is a very simple type of plant that lacks conventional roots, stems, and leaves; its absorb water and nutrients mainly through their leaves and harvest sunlight to create food by photosynthesis. Indeed, they do not have proper roots, but have threadlike (rhizoids) that anchor them to their substrate [131]. The name refers to any species of the class Bryopsida and is part of the division Bryophyta. Bryophyta means the first green land plants to develop during the evolutionary process [132]. There are approximately 12,000 species of moss classified in the Bryophyta [131].

Mosses are small, soft plants that are typically 1–10 cm tall, though some species are much larger, like *Dawsonia*, the tallest moss in the world which can grow to 50 cm in height. They commonly grow close together in clumps or mats in damp or shady locations. They do not have flowers or seeds, and their simple leaves cover the thin wiry stems. At certain times mosses produce spore capsules which may appear as beak-like capsules borne aloft on thin stalks [131].

Lacking traditional vascular structures of true leaves, stems, and roots, moss growth is limited to moist locations. It is usually very hardy and grows almost everywhere, except under the sea. It is generally of little use to humans or animals, although it is sometimes eaten in times of famine [132 and 133].

Mosses are very sensitive bio-indicators of heavy metal and pollution in the environment. Indeed, moss used for surveying atmospheric heavy metal deposition [134].



Figure A- 12: Moss.



## APPENDIX 9: FERN

Fern (figure A-13) is any one of a group of about 12,000 species of plants belonging to the botanical group known as Pteridophyta [135 and 136]. Unlike mosses, they have xylem and phloem, making them vascular plants. They have stems, leaves, and roots like other vascular plants [136].

The stereotypical image of ferns growing in moist shady woodland nooks is far from a complete picture of the habitats where ferns can be found growing. Fern species live in a wide variety of habitats, from remote mountain elevations, to dry desert rock faces, to bodies of water or in open fields [136 and 137]; there is a species of fern that can inhabit nearly every condition on the planet [138]. Ferns in general may be thought of as largely being specialists in marginal habitats, often succeeding in places where various environmental factors limit the success of flowering plants. Some ferns are among the world's most serious weed species. There are four particular types of habitats that ferns are found in: moist, shady forests, crevices in rock faces, especially when sheltered from the full sun, acid wetlands including bogs and swamps, and tropical trees, where many species are epiphytes (something like a quarter to a third of all fern species) [135].

Fern plants differ from other kinds of plants in several ways. One way that ferns differ is how they propagate. Instead of growing from a seed or a flower, fern plants reproduce sexually using spores [138, 137 and 135].

The fern can grow in contaminated soils and accumulates large amounts of heavy elements in its above ground biomass. Remediating contaminated soils have been the subject of research for fern ability to remove some chemical pollutants, i.e. ferns classified as hyper-accumulate for arsenic [139].



Figure A- 13: Fern.

## **APPENDIX 10: ACCURACY AND PRECISION**

Two terms are usually used in discussing the uncertainties in measured values: precision and accuracy [140]. Ideally a measurement device is both accurate and precise, with measurements all close to and tightly clustered around real or truth value. The accuracy and precision of a measurement process is usually established by repeatedly measuring some traceable reference standard [141].

### **Accuracy**

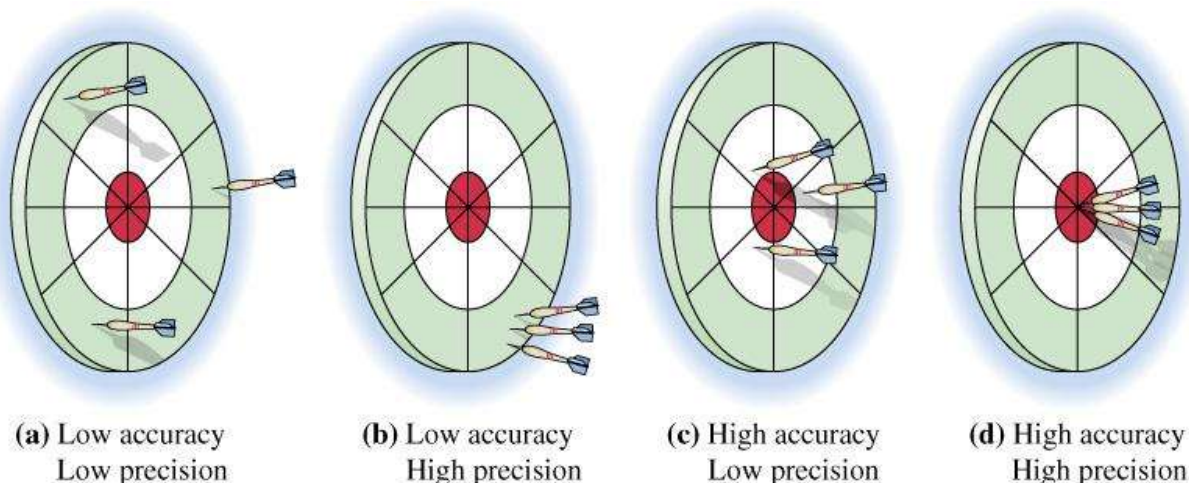
In the fields of science, engineering, industry, and statistics, the accuracy of a measurement system is the degree of closeness of measurements of a quantity to that quantity's actual (true) value [141 and 142]. An accurate determination produces a true quantitative value, i.e. it is precise and free of bias [143]. In a laboratory setting this is often how far a measured value is from a standard with a known value that was measured by different technology or on a different instrument [144].

### **Precision**

The precision of a measurement system, also called reproducibility or repeatability, is the degree to which repeated measurements under unchanged conditions show the same results [141 and 142]. On the other words, precision is a measure of how closely individual measurements agree with one another [140]. Precision measure of dispersion or scattering around the mean value and usually expressed in terms of standard deviation, standard error or a range (difference between the highest and the lowest result) [143].

### **Differences between accuracy and precision**

Accuracy is a measure of how close a result is to the true value. Precision is a measure of how repeatable the result is [145]. Obviously the goal is to have a measurement that is both accurate and precise, but being one doesn't mean that the other is as well [144]. For instance, if we had a bow, arrow and target archery (figure A-14); accurate shots would be ones in which hit the bull's eye. If a shot landed in the bull's eye and others around the target would be accurate, but not precise; If all of shots landed close together, but not near the target than we would be precise but not accurate. To be accurate and precise all shots should to be together and in the bulls eye [144].



**Figure A- 14: Target practice, demonstrating the difference between accuracy and precision.**

From the example given it is possible to be very precise, but not at all accurate. This is called a systematic error (sometimes also called bias) and can normally be corrected [145]. Eliminating the systematic error improves accuracy but does not change precision [141].

Confidence gains for accuracy of a measurement if it obtained nearly the same value in many different experiments. Thus, in the laboratory often perform several different trials of the same experiment. It is possible, however, for a precise value to be inaccurate. For example, if a very sensitive balance is poorly calibrated, the masses measured will be inaccurate even if they are precise [140].

**BIBLIOGRAPHY**

- [1] What lives in geothermal areas? [accessed 2013, February 8<sup>th</sup>]  
<http://www.waikatoregion.govt.nz/Environment/Natural-resources/Geothermal-resources/What-lives-in-geothermal-areas/>
- [2] Hot Springs - Geothermal Energy Sources and Their Therapeutic Properties [accessed 2013, February 22<sup>th</sup>]  
<http://articles.pubarticles.com/hot-springs-geothermal-energy-sources-and-their-therapeutic-properties-1321282235,487673.html>
- [3] Story: Hot springs, mud pools and geysers [accessed 2013, February 22<sup>th</sup>]  
<http://www.teara.govt.nz/en/hot-springs-mud-pools-and-geysers/page-4>
- [4] Kōrero: Hot springs, mud pools and geysers [accessed 2013, February 22<sup>th</sup>]  
<http://www.teara.govt.nz/mi/hot-springs-mud-pools-and-geysers/page-1>
- [5] Bruce Burns and John Leathwick (1995), Geothermal Vegetation Dynamics, Department of Conservation, Wellington, New Zealand.
- [6] Sunflowers for Lead. Spider Plants for Arsenic. [accessed 2013, February 22<sup>th</sup>]  
<http://www.metrojacksonville.com/article/2010-jun-sunflowers-for-lead-spider-plants-for-arsenic>
- [7] Los Azufres [accessed 2013, February 8<sup>th</sup>]  
<http://www.volcanolive.com/azufres.html>
- [8] Los Azufres [accessed 2013, February 8<sup>th</sup>]  
[http://www.volcanodiscovery.com/los\\_azufres.html](http://www.volcanodiscovery.com/los_azufres.html)
- [9] Sharma Ajay and Sharma Rohit (2012). Validation of analytical procedures: a comparison of ich vs pharmacopoeia (USP) vs FDA, IRJP 2012, 3(6).
- [10] Günter Zschornack (2007). Handbook of X-Ray Data, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin, Germany.
- [11] René E. Van Grieken and Andrzej A. Markowicz (2002). Handbook of X-Ray Spectrometry: Second Edition, Revised and Expanded, 2001, Marcel Dekker, Inc., New York.
- [12] G. Gauglitz and T. Vo-Dinh (2003). Handbook of Spectroscopy, Wiley-VCH.
- [13] B. Beckhoff, B. Kanngienßer, N. Langhoff, R. Wadell and H. Wolff (2006). Handbook of Practical X-Ray Fluorescence Analysis, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, Inc., Germany.

- [14] Larry D. Hanke, P.E. (2001). Handbook of Analytical Methods for Materials: Practical Solutions to Materials Problems through Technology and Innovation, Materials Evaluation and Engineering, Inc., USA.
- [15] De Francesco, A. M., Crisci, G. M. and Bocci, M. (2008). Non-Destructive Analytic Method Using XRF for Determination of Provenance of Archaeological Obsidians from the Mediterranean Area: A Comparison With Traditional XRF Methods. *Archaeometry*, 50: 337–350. doi: 10.1111/j.1475-4754.2007.00355.x
- [16] M. Steven Shackley (October 2010). X-Ray Fluorescence Spectrometry (XRF) in Geoarchaeology, Springer Science+Business Media, New York, USA.
- [17] Ron Jenkins (1976). An introduction to X-ray spectrometry, Heyden and Son Ltd., London.
- [18] Ron Jenkins (1999). X-Ray Fluorescence Spectrometry, second edition, John Wiley & Sons Inc., USA.
- [19] Peter Brouwer (2010). Theory of XRF: Getting acquainted with the principles (3<sup>rd</sup> Edition), PANalytical B.V. Almelo, Netherlands.
- [20] Energy-dispersive X-ray spectroscopy [accessed 2012, December 10th]  
[http://en.wikipedia.org/wiki/Energy-dispersive\\_X-ray\\_spectroscopy](http://en.wikipedia.org/wiki/Energy-dispersive_X-ray_spectroscopy)
- [21] Ron Jenkin (2000). X-ray Techniques: Overview, Encyclopedia of Analytical Chemistry, R.A. Meyers (Ed.), pp. 13269–13288, John Wiley & Sons Ltd, Chichester.
- [22] Claude Leroy and Pier-Giorgio Rancoita (2009). Principles of Radiation Interaction in Matter and Detection, Second Edition, World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., Singapore.
- [23] Nicholas Tsoulfanidis and Sheldon Landsberger (2011). Measurement and Detection of Radiation, Third Edition, CRC press, USA.
- [24] Working principle of an EDXRF spectrometer, SECTRO Analytical Instruments GmbH [accessed 2012, December 10<sup>th</sup>]  
<http://www.spectro.com/pages/e/p0105wp01.htm>
- [25] Raymond A. Serway and John W. Jewett, Jr. (2010). Physics for Scientists and Engineers with Modern Physics, Eighth Edition, Brooks/Cole.
- [26] Keith A. Smith and Malcolm S. Cresser (2004). Soil and Environmental Analysis: Modern Instrumental Techniques, Third edition, Marcel Dekker, Inc., New York, USA.
- [27] J. Heckel and R. Schramm (1997). Bragg and Barkla polarization in EDXRF, JCPDS-International Centre for Diffraction Data.

- [28] Joanne M. O'Meara (1999). PhD thesis: Measuring lead, mercury, and uranium by in vivo x-ray fluorescence, McMaster University, Canada.
- [29] Henry Semat and Robert Katz (1958). Physics, Chapter 41: Polarized Light, New York: Rinehart & Company, Inc., USA.
- [30] R. Saravanan and M. Prema Rani (2012). Metal and Alloy Bonding - An Experimental Analysis: Charge Density in Metals and Alloys, Springer-Verlag London Limited.
- [31] Eric Lifshin (1999). X-ray Characterization of Materials, WILEY-VCH Verlag GmbH, Germany.
- [32] J. Heckel and R. Schram (1997). Bragg and Barkla polarization in EDXRF, JCPDS-International Centre for Diffraction Data.
- [33] II. Principle of WD-XRF [accessed 2013, February 8<sup>th</sup>]  
[http://www.cnstn.rnrt.tn/afra-ict/NAT/xrf/html/principe\\_sec4.htm](http://www.cnstn.rnrt.tn/afra-ict/NAT/xrf/html/principe_sec4.htm)
- [34] X-ray Crystallography [accessed 2013, January 19<sup>th</sup>]  
[http://chemwiki.ucdavis.edu/Analytical\\_Chemistry/Instrumental\\_Analysis/X-ray\\_Crystallography](http://chemwiki.ucdavis.edu/Analytical_Chemistry/Instrumental_Analysis/X-ray_Crystallography)
- [35] J. Kenneth Shultis and Richard E. Faw (2002). Fundamentals of Nuclear Science and Engineering, Marcel Dekker, New York, USA.
- [36] Sabol J. and Weng P. S. (1995). Introduction to Radiation Protection Dosimetry, World Scientific Publishing Co., Singapore.
- [37] Martin A. and Harbison S. A. (1996). An Introduction to Radiation Protection, Chapman and Hall Medical, London, UK.
- [38] Knoll G. F. (2000). Radiation Detection and Measurement, Third edition, John Wiley and Sons, Inc., New York.
- [39] Kouichi Tsuji, Jasna Injuk and René Van Grieken (2004). X-Ray Spectrometry: Recent Technological Advances, John Wiley and Sons Ltd., UK.
- [40] Energy Dispersive Spectrometry (EDS) [accessed 2013, January 3<sup>th</sup>]  
[http://www4.nau.edu/microanalysis/microprobe-sem/signal\\_detection.html](http://www4.nau.edu/microanalysis/microprobe-sem/signal_detection.html)
- [41] Warra A. A. and Jimoh W.L.O. (August 08, 2011). Overview of an Inductively Coupled Plasma (ICP) System, International Journal of Chemical Research (IJCR), ISSN: 0975-3699 & E-ISSN: 0975-9131, Vol. 3, Issue 2, 201, pp-41-48.

- [42] Steve J. Hill (2007). *Inductively Coupled Plasma Spectrometry and its Applications*, 2nd Edition, Blackwell Publishing Ltd.
- [43] R. W. Murray, D. J. Miller and K. A. Kryc (2000). Analysis of major and trace elements in rocks, sediments, and interstitial waters by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry (ICP-AES). ODP Tech. Note, 29. doi:10.2973/odp.tn.29.2000.
- [44] Thomas J. Manning and William R. Grow (1997). *Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectrometry*, Springer-Verlag, New York, Inc., S1430 - 4171 (97) 01103-5.
- [45] *Guide to Inorganic Analysis from the leaders in AA, ICP-OES and ICP-MS* (2004), PerkinElmer, Inc., USA.
- [46] Robert Thomas (April 2001). A Beginner's Guide to ICP-MS, SPECTROSCOPY 16(4).
- [47] Robert Thomas (2004). *Practical Guide to ICP-MS*, Marcel Dekker, Inc., USA.
- [48] Simon M. Nelms (2005). *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry Handbook*, Blackwell Publishing Ltd.
- [49] Charles B. Boss and Kenneth J. Fredeen (1997). *Concepts Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*, Second Edition, Perkin-Elmer Corporation, USA.
- [50] Namik K. Aras and O. Yavuz Ataman (2006). *Trace element analysis of food and diet*, Royal Society of Chemistry, UK.
- [51] Figure of merit [accessed 2013, February 9<sup>th</sup>]  
[http://en.wikipedia.org/wiki/Figure\\_of\\_merit](http://en.wikipedia.org/wiki/Figure_of_merit)
- [52] AAS, GFAAS, ICP or ICP-MS? Which technique should I use? : An elementary overview of elemental analysis. Thermo Elemental, USA, 2001.
- [53] Stephen Summerfield (April 2010). *Introduction to Atomic Spectrometry*, Loughborough University, England & Wales License, UK.
- [54] *Atomic Spectroscopy: A Guide to Selecting the Appropriate Technique and System*, (2009), PerkinElmer, Inc., USA.
- [55] Wendy Ann Peer, Ivan R. Baxter, Elizabeth L. Richards, John L. Freeman and Angus S. Murphy (2006). Phytoremediation and hyperaccumulator plants. In: Markus J. Tamás and Enrico Martinoia eds. *Molecular Biology of Metal Homeostasis and Detoxification From Microbes to Man*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany.

- [56] Martina Mackova, David Dowling and Thomas Macek (2006). *Phytoremediation Rhizoremediation*, Springer, Netherlands.
- [57] Neil Willey (2007). *Phytoremediation, Methods and Reviews*, Humana Press Inc., New Jersey, USA.
- [58] Ray R. Hinchman, M. Cristina Negri and Edward G. Gatliff (August 1996). *Phytoremediation: Using Green Plants to Clean Up Contaminated Soil, Groundwater, and Wastewater*, Argonne National Laboratory and Applied Natural Sciences, Inc.
- [59] S. Khemnani, B. Aswani, A. Arora and R. S. Sindal (2012). Detection of heavy metal contents in the seed oil of *solanum malongena* (egg plant), *International Journal of Basic and Applied Chemical Sciences* ISSN: 2277-2073, 2012 Vol. 2 (1) January-March, pp.59-65/Khemnani et al.
- [60] Y. M. Varsha, Naga Deepthi CH and Sameera Chenna (2011). An Emphasis on Xenobiotic Degradation in Environmental Clean up. *J Bioremed Biodegrad* S11:001. doi:10.4172/2155-6199.S11-001.
- [61] A Citizen's Guide to Phytoremediation (April 2001). EPA 542-F-01-002, Washington, USA.
- [62] Phytoremediation [accessed 2013, February 7<sup>th</sup>]  
<http://en.wikipedia.org/wiki/Phytoremediation>
- [63] Jafari Ghavzan and R. K. Trivedy (2005). Environmental Pollution Control by using Phytoremediation Technology. *Pollution Research*, 24(4): 875-884. (ISI)
- [64] S. L. Hutchinson, A. P. Schwab and M. K. Banks, (2003). Biodegradation of petroleum hydrocarbons in the rhizosphere. In: Steven C. McCutcheon and Jerald L. Schnoor eds., *Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants*. (pp. 355-386). Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc.
- [65] Bruce E. Pivetz (February 2001). Ground Water Issue: Phytoremediation of Contaminated Soil and Ground Water at Hazardous Waste Sites, Environmental Protection Agency, EPA/540/S-01/500, USA.
- [66] Fertilizer [accessed 2013, February 7<sup>th</sup>]  
<http://en.wikipedia.org/wiki/Fertilizer>
- [67] Prabha K. Padmavathiamma and Loretta Y. Li (2007). *Phytoremediation Technology: Hyper-accumulation Metals in Plants*, Springer Science + Business Media B.V, Water Air Soil Pollute 184:105–126, DOI 10.1007/s11270-007-9401-5, 184:105–126.



- [68] Park S. Nobel (2009). *Physicochemical and Environmental Plant Physiology*, Academic Press is an imprint of Elsevier, Canada, Fourth Edition.
- [69] Jean-Louis Morel, Guillaume Echevarria and Nadezhda Goncharova (August, 2002). *Phytoremediation of Metal-Contaminated Soils*, Springer, Netherlands.
- [70] Garba, S. T. and Barminas, J.T. (2010). *Phytoremediation and the Deserts towards a Sustainable Environmental Development*, World Rural Observations 2010, 2(2).
- [71] L. R. Hossner, R. H. Loeppert, R. J. Newton and P. J. Szaniszlo (May 1998). Literature review: Phytoaccumulation of chromium, uranium, and plutonium in plant systems, Amarillo National Resource Center for Plutonium, TX (United States), ANRCP-1998-3.
- [72] Nancy Adams, Dawn Carroll, Kelly Madalinski, Steve Rock, Tom Wilson Bruce Pivetz, Todd Anderson, Jon Chappell, Scott Huling, Jessica Palmiotti and Phil Sayre (February 2000). *Introduction to Phytoremediation*, National Risk Management Research Laboratory, Ohio, USA, EPA/600/R-99/107.
- [73] Stern K. R. (2000). *Introductory plant biology*, Eighth Edition, Boston, MA: McGraw Hill.
- [74] Raskin I., Ensley B.D. (2000). *Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment*, New York, NY: John Wiley & Sons, Inc.
- [75] Ludwig Huber (2010), *Validation of Analytical Methods*, Agilent Technologies.
- [76] Chung Chow Chan (April 2008), *Analytical method validation: principles and practices*. In: Shayne Cox Gad ed., *Pharmaceutical Manufacturing Handbook: Regulations and Quality*, Hoboken, New Jersey, USA, John Wiley & Sons, Inc.
- [77] Katharina Wien, Dirk Wissmann, Martin Kölling and Horst D. Schulz (2005). Fast application of x-ray fluorescence spectrometry aboard ship: how good is the new portable Spectro Xepos analyser?, *Springer-Verlag, Geo-Mar Lett* 25: 248–264, DOI 10.1007/s00367-004-0206-x.
- [78] R. Padilla, P. Van Espen, and P.P. Godo Torres, The suitability of XRF analysis for compositional classification of archaeological ceramic fabric: a comparison with a previous NAA study, 2005, Elsevier B.V., doi:10.1016/j.aca.2005.10.077, *Analytica Chimica Acta* 558 (2006) 283–28.
- [79] D. M. Johnson, P. R. Hooper, and R. M. Conrey (1999). XRF analysis of rocks and minerals for major and trace elements on a single low dilution Li-tetraborate fused bead, JCPDS-International Centre for Diffraction Data.

- [80] Chris Vanhoof, Valère Corthouts and Kristof Tirez, Energy-dispersive X-ray fluorescence systems as analytical tool for assessment of contaminated soils, *J. Environ. Monit.*, 2004 , 6, 344 – 350
- [81] E. Margui, I. Queralt, M.L. Carvaiho, M. Hidalgo (2005). Comparison of EDXRF and ICP-OES after microwave digestion for element determination in plant specimens from an abandoned mining area. *Anal. Chim. Acta*, 549, 197–204.
- [82] Nielson KK, Mahoney AW, Williams LS, Rogers VC 1991: X-ray fluorescence measurements of Mg, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Cu, and Zn in fruits, vegetables, and grain products. *J. Food Compos. Anal.*, 4, 39–51.
- [83] G. E. Hicho and E. E. Eaton, A standard reference material containing nominally five percent austenite (SRM 486a), National Bureau of Standard Special Publication 260-76, Washington, USA, Aug. 1982.
- [84] Heckel J, Haschke M, Brumme M, Schindler R. (1992) Principles and applications of energy-dispersive X-ray fluorescence analysis with polarized radiation. *JAAS* 7:281–286
- [85] Schramm R, Heckel J (1998) Fast analysis of traces and major elements with ED(P)XRF using polarized X-rays: TURBOQUANT. *J Phys IV Fr* 8 P5: 335–342.
- [86] Torkild Eivindson and Oyvind Mikkelsen, Problems by using pressed powder pellets for XRF analysis of ferrosilicon alloys, 1999, JCPDS-International Centre for Diffraction Data.
- [87] R. Schramm, J. Heckel and K. Molt, ED(P)XRF: Screening analysis and quantitative analysis with polarized x-rays, 1999, JCPDS-International Centre for Diffraction Data.
- [88] C. Namowicz, K. Trentelman and C. McGlinchey, XRF of cultural heritage materials: Round-robin IV – paint on canvas, *Powder Diffr.* 24, 124-129 (2009)
- [89] Truesdell A.H. (1976). Summary of section III: geochemical techniques in exploration, second united nations symposium on the development and use of geothermal resources, pp. 53–79, San Francisco, USA.
- [90] Fournier R.O. (1977). Chemical geothermometers and mixing models for geothermal systems, *Geothermics*, 5, 41–50.
- [91] Stefán Arnórsson (2000). Isotopic and chemical techniques in geothermal exploration, development and use: sampling methods, data handling, interpretation, International Atomic Energy Agency, Vienna.

- [92] What Happens When a Hot Spring Mixes With Sediment? [accessed 2013, March 17<sup>th</sup>]  
[http://www.ehow.com/facts\\_7545973\\_happens-hot-spring-mixes-sediment.html](http://www.ehow.com/facts_7545973_happens-hot-spring-mixes-sediment.html)
- [93] Fumarole science definition [accessed 2013, March 17<sup>th</sup>]  
<http://science.yourdictionary.com/fumarole>
- [94] Fumarole? [accessed 2013, March 17<sup>th</sup>]  
<http://www.thefreedictionary.com/Fumaroles>
- [95] Chemicals and Soils [accessed 2013, March 18<sup>th</sup>]  
<http://nzic.org.nz/ChemProcesses/soils/>
- [96] Plant nutrition [accessed 2013, March 18<sup>th</sup>]  
[http://en.wikipedia.org/wiki/Plant\\_nutrition](http://en.wikipedia.org/wiki/Plant_nutrition)
- [97] Plant Adaptations [accessed 2013, April 2<sup>th</sup>]  
<http://www.mbgnet.net/bioplants/adapt.html>
- [98] How do plants adapt to their environment? [accessed 2013, April 2<sup>th</sup>]  
[http://wiki.answers.com/Q/How\\_do\\_plants\\_adapt\\_to\\_their\\_environment](http://wiki.answers.com/Q/How_do_plants_adapt_to_their_environment)
- [99] An Introduction to ICP-OES [accessed 2013, April 2<sup>th</sup>]  
[http://www.apgqa.com/newsletters/10\\_2004\\_icp.asp](http://www.apgqa.com/newsletters/10_2004_icp.asp)
- [100] (2008). Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES), Koninklijke Philips, Electronics N.V.
- [101] (2001). SPECTRO ICP-Report: SPECTRO CIROSC<sup>CD</sup>: analytical performance of the new SPECTRO CIROSC<sup>CD</sup> ICP-Spectrometer with radial plasma viewing, SPECTRO Analytical Instruments GmbH, Kleve, Nr. ICP-32, SPECTRO.
- [102] Xiandeng Hou and Bradley T. Jones (2000). Inductively Coupled Plasma/Optical Emission Spectrometry. In: R.A. Meyers ed. Encyclopedia of Analytical Chemistry. pp. 9468–9485, John Wiley & Sons Ltd, Chichester.
- [103] Katleen Van Meel, Anne Smekens, Marc Behets, Paul Kazandjian and René Van Grieken (2007). Determination of platinum, palladium, and rhodium in automotive catalysts using high-energy secondary target x-ray fluorescence spectrometry. Anal. Chem., 79(16), pp 6383–6389, DOI: 10.1021/ac070815r.
- [104] Steven J. Goldstein, Alice K. Slemmons and Heather E. Canavan (1996). Energy-dispersive x-ray fluorescence methods for environmental characterization of soils, Environ. Sci. Technol., 30, 2318-2321. Vol. 30, No. 7.

- [105] Eva Marguí, Cl udia Font s, Katleen Van Meel, René Van Grieken, Ignasi Queralt, and Manuela Hidalgo (2008). High-energy polarized-beam energy-dispersive x-ray fluorescence analysis combined with activated thin layers for cadmium determination at trace levels in complex environmental liquid samples, *Anal. Chem.*, 80, 2357-2364. Vol. 80, No. 7.
- [106] J. M. Wood (1985). Effects of Acidification on the Mobility of Metals and Metalloids: An Overview, *Environmental Health Perspectives*, Vol. 63, pp. 115-119.
- [107] Silicon [accessed 2013, April 14<sup>th</sup>]  
<http://en.wikipedia.org/wiki/Silicon>
- [108] A. A. Yaroshevsky (2006). Abundances of Chemical Elements in the Earth's Crust, *Geochemistry International*, Vol. 44, No. 1, pp. 48-55, ISSN 0016-7029, DOI: 10.1134/S001670290601006X.
- [109] Geothermal Habitats [accessed 2013, April 29<sup>th</sup>]  
[http://www.ehow.com/info\\_8326584\\_geothermal-habitats.html](http://www.ehow.com/info_8326584_geothermal-habitats.html)
- [110] Marco A. Torres-Rodríguez, Alfredo Mendoza-Covarrubias and Moisés Medina-Martínez (2005). An update of the Los Azufres geothermal field, after 21 years of exploitation, Antalya, Turkey, 24-29.
- [111] Salvatore Brullo, Maria Privitera and Marta Puglisi (2001). Phytogeographical considerations on the fumarole bryoflora from Mediterranean and Macaronesian areas. *Boccone* 13: 329-336, ISSN 1120-4060.
- [112] Bruce Burns (1997). Vegetation change along a geothermal stress gradient at the Te Kopia steamfield, *Journal of the Royal Society of New Zealand*, 27:2, 279-293.
- [113] Salvatore Brullo, Maria Privitera and Marta Puglisi (2004). Bryophyte vegetation of the fumaroles from some Mediterranean and Macaronesian territories, *Nova Hedwigia* 78: 367-387, DOI: 10.1127/0029-5035/2004/0078-0367.
- [114] R.I. Lewis Smith (2005). The thermophilic bryoflora of deception island: unique plant communities as a criterion for designating an Antarctic Specially Protected Area, *Antarctic Science* 17 (1): 17-27, DOI: 10.1017/S0954102005002385
- [115] Margaret A. Briggs-Kamara (2012). Elemental analysis of selected epidermal creams by x-ray Fluorescence (XRF) Spectrometry, *International Journal of Emerging Technology and Advanced Engineering*, ISSN 2250-2459, Volume 2, Issue 5. May 2012

- [116] E. Marguí, I. Queralt and M. Hidalgo (2009). Application of x-ray fluorescence spectrometry to determination and quantitation of metals in vegetal material, *Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 28, No. 3, doi:10.1016/j.trac.2008.11.011.
- [117] Ilya Raskin, Robert D. Smith and David E. Salt (1997). Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment, *Current Opinion in Biotechnology*, 8:221-226.
- [118] D. E. Salt, R. D. Smith, and I. Raskin (1998). Phytoremediation, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49:643–68.
- [119] Elizabeth Pilon-Smits (2005). Phytoremediation, *Annu. Rev. Plant Biol.* 56:15–39. doi: 10.1146/annurev.arplant.56.032604.144214.
- [120] M. N. V. Prasad (2011). A State-of-the-Art report on Bioremediation, its Applications to Contaminated Sites in India, Ministry of Environment & Forests, Government of India
- [121] Scott D. Cunningham, William R. Berti and Jianwei W. Huang (1995). Manipulating metabolism: Phytoremediation of contaminated soils, TIBTECH (VOL 13), Elsevier Science Ltd 0167 - 7799/95/\$9.50.
- [122] M. M. Lasat (2000). Phytoextraction of the metals from contaminated soil: A review of plant/soil/metal interaction and assessment of pertinent agronomic issues, *Journal of Hazardous Substance Research* Volume Two.
- [123] Michael W. Persans and David E. Salt (2000). Possible molecular mechanisms involved in nickel, zinc and selenium hyperaccumulation in plants, *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, Volume 17.
- [124] Ron Jenkins, R. W. Gould, and Dale Gedcke (1995). *Quantitative X-ray Spectrometry*, Second Edition, Marcel Dekker, Inc., New York, USA, 439-460.
- [125] Sieve Access [accessed 2013, January 30<sup>th</sup>]  
<http://www.thefreedictionary.com/sieve>
- [126] Sieve Access [accessed 2013, January 30<sup>th</sup>]  
<http://www.merriam-webster.com/dictionary/sieve>
- [127] Sieve Access 1-30-2013 [accessed 2013, February 7<sup>th</sup>]  
<http://en.wikipedia.org/wiki/Sieve>
- [128] Mortar and pestle [accessed 2013, February 5<sup>th</sup>]  
[http://en.wikipedia.org/wiki/Mortar\\_and\\_pestle](http://en.wikipedia.org/wiki/Mortar_and_pestle)
- [129] Hydraulic press [accessed 2013, February 5<sup>th</sup>]

[http://en.wikipedia.org/wiki/Hydraulic\\_press](http://en.wikipedia.org/wiki/Hydraulic_press)

[130] The Working and usage Of Hydraulic Press [accessed 2013, February 5<sup>th</sup>]

[http://www.hydraulicmania.com/hydraulic\\_press.htm](http://www.hydraulicmania.com/hydraulic_press.htm)

[131] Moss [accessed 2013, February 10<sup>th</sup>]

<http://en.wikipedia.org/wiki/Moss>

[132] What is moss [accessed 2013, February 10<sup>th</sup>]

<http://www.wisegeek.org/what-is-moss.htm>

[133] Moss [accessed 2013, February 10<sup>th</sup>]

<http://global.britannica.com/EBchecked/topic/393741/moss>

[134] Maurizio Aceto, Ornella Abollino, Raffaele Conca, Mery Malandrino, Edoardo Mentasti, Corrado Sarzanini (2003), The use of mosses as environmental metal pollution indicators, *Chemosphere* 50 333–342, Elsevier Science Ltd.

[135] Fern [accessed 2013, February 10<sup>th</sup>]

<http://en.wikipedia.org/wiki/Fern>

[136] Fern [accessed 2013, February 10<sup>th</sup>]

<http://en.canadianflowerdelivery.com/flower-meaning/fern.aspx>

[137] About ferns [accessed 2013, February 10<sup>th</sup>]

<http://www.home.aone.net.au/~byzantium/ferns/about.html>

[138] About ferns [accessed 2013, February 10<sup>th</sup>]

[http://www.aboutferns.com/fern\\_plants.shtml](http://www.aboutferns.com/fern_plants.shtml)

[139] Bala Rathinasabapathi, Lena Q. Ma, Mrittunjai Srivastava (2006), Arsenic Hyperaccumulating Ferns and their Application to Phytoremediation of Arsenic Contaminated Sites, *Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology Volume III*, Global Science Books, UK.

[140] Uncertainty in measurement [accessed 2013, March 2<sup>th</sup>]

<http://wps.prenhall.com/wps/media/objects/3310/3390101/blb0105.html>

[141] Accuracy and precision [accessed 2013, March 2<sup>th</sup>]

[http://en.wikipedia.org/wiki/Accuracy\\_and\\_precision](http://en.wikipedia.org/wiki/Accuracy_and_precision)

[142] Accuracy and precision [accessed 2013, March 2<sup>th</sup>]

<http://www.mathsisfun.com/accuracy-precision.html>

[143] Basic statistical tools [accessed 2013, March 2<sup>th</sup>]

<http://www.fao.org/docrep/W7295E/w7295e08.htm>

[144] Accuracy and precision [accessed 2013, March 2<sup>th</sup>]

<http://forensictalks.blogspot.mx/2011/02/accuracy-and-precision.html>

[145] Accuracy, precision and common errors [accessed 2013, March 2<sup>th</sup>]

<http://labspace.open.ac.uk/mod/resource/view.php?id=346092>



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO  
INSTITUTO DE FÍSICA Y MATEMÁTICAS

CARACTERIZACIÓN DE LOS PERFILES ELEMENTALES EN LA BIO-  
GEOSFERA DE LOS MANANTIALES GEOTÉRMICOS "LOS AZUFRES"  
TESIS

Por

Waleed Amin Ahmad Abuhani

abuhani.waleed@gmail.com

abuhani@ifm.umich.mx

DOCTORADO EN CIENCIAS  
EN EL ÁREA DE FÍSICA APLICADA

Asesora: Prof. Dra. Nabanita Dasgupta-Schubert

nita@ifm.umich.mx

nitasschubert@gmail.com

Co-Asesor: Prof. Dr. Luis Manuel Villaseñor Cendejas

villasen@ifm.umich.mx

lvillasen@gmail.com

Morelia, Michoacán, México

Agosto 2013





# CARACTERIZACIÓN DE LOS PERFILES ELEMENTALES EN LA BIO-GEOSFERA DE LOS MANANTIALES GEOTÉRMICOS "LOS AZUFRES"

Por

Waleed Amin Ahmad Abuhani

UNA TESIS SOMETIDA A

EL INSTITUTO DE FÍSICA Y MATEMÁTICAS DE LA UNIVERSIDAD MICHOACANA DE  
SAN NICOLÁS DE HIDALGO, EN CUMPLIMIENTO PARCIAL DE LOS REQUISITOS  
PARA EL GRADO DE DOCTORADO EN CIENCIAS

## COMITÉ DE EVALUACIÓN DE TESIS:

Prof. Dra. Nabanita Dasgupta-Schubert, Asesora  
Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas,  
Instituto de Física y Matemáticas  
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Prof. Dr. Luis Manuel Villaseñor Cendejas, Co-Asesor  
Instituto de Física y Matemáticas  
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Prof. Dr. Mario César Suárez Arriaga  
Facultad de Ciencias Físico-Matemáticas  
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Prof. Dra. Sandra Leticia Bribiesca Vázquez  
Instituto de Investigaciones Metalúrgicas  
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

M.C. Magaly Flores Armenta  
Comisión Federal de Electricidad

M.C. Felipe Rodrigo Cervantes  
Comisión Federal de Electricidad

## RESUMEN EXTENDIDO

Los Azufres en Michoacán, México se encuentra en el centro de México 200 kilómetros NW de la ciudad de México. Un gran número de características hidrotermales naturales como aguas termales y fumarolas existe en la zona montañosa de Los Azufres. Manantiales geotérmicos y fumarolas de Los Azufres, tales como los que se investigan en este trabajo tal vez representante del medio ambiente de la Tierra primitiva. Cuando la temperatura ambiente fuera más caliente y el nivel de dióxido de carbono y humedad relativa más alta. Las plantas adaptadas a las áreas geotérmicas posiblemente imitan la vegetación de la Tierra primitiva y la zona en sí misma pueden servir para condiciones proxy en otros planetas como la Tierra.

Las áreas geotérmicas son el hogar de colecciones distintas y únicas de especies de plantas. Algunas de estas especies son muy valiosas para la ciencia a causa de sus adaptaciones a las temperaturas extremas y ambientes tóxicos. Las plantas que viven en zonas geotérmicas o extremófilas como se les llama, deben ser capaces de sobrevivir a condiciones extremas de temperatura, la acidez y la alcalinidad, turbidez, toxicidad, por ejemplo, acidez del agua podría alcanzar un pH de 2,2 (pH 2.6 del lago Laguna Verde). Muchas de las especies que se encuentran en áreas geotérmicas se adaptan a florecer en dichas condiciones hostiles, algunas de ellas son endémicas de áreas geotérmicas. Hay pocos estudios sobre las plantas geotérmicas. En efecto, se sabe poco acerca de la magnitud, la singularidad y la diversidad de las plantas vivas que se encuentran en áreas geotérmicas vírgenes.

La actividad geotérmica de Los Azufres dio lugar a la elevación natural de elementos pesados y raros. Las condiciones ambientales distintivas asociadas con los sitios geotérmicos permiten asentarse y establecerse inusuales y raras especies de plantas. Estas plantas pueden tener la capacidad de tolerar y acumular grandes cantidades de elementos pesados y raros (plantas hiper-acumuladoras). Existen pocos o ningún estudio sobre las características de la acumulación de elementos pesados y raros por plantas adaptadas a las zonas geotérmica de Los Azufres.

La fitorremediación se considera que es una tecnología de punta limpia, rentable y no altera el medio ambiente para la eliminación de contaminantes del mismo en comparación con los métodos de limpieza mecánicos tales como la excavación del suelo o de bombeo de aguas subterráneas contaminadas. El objetivo general de este estudio es caracterizar las plantas extremófilas y los sustratos asociados del suelo y el agua de los sitios geotérmicos de Los Azufres seleccionadas por sus concentraciones de los elementos Na a U y B. Si se descubre ser hiper-acumuladoras de metal, las plantas serían valiosas para

la fitorremediación de zonas contaminadas, especialmente aquellas con condiciones ambientales adversas.

La Espectrometría de Energía Polarizada Dispersiva de Fluorescencia Rayos X (PEDXRF) posee las ventajas del análisis simultáneo de elementos desde Na hasta U y fácil preparación de la muestra y el funcionamiento del instrumento, que hacen que la técnica también sea conveniente para diferentes aplicaciones. En efecto, la espectrometría PEDXRF puede analizar muestras sólidas sin la necesidad de una forma líquida o en digestión. Por lo tanto XRF se ha convertido en la herramienta universal en laboratorios analíticos. La espectrometría PEDXRF se ha convertido en la herramienta de elección para el análisis muy preciso, exacto y reproducible, no destructivo de los elementos. La técnica se utiliza rutinariamente para el análisis de alta resolución. Las sensibilidades y los límites de detección obtenidos con excitación directa se pueden mejorar hasta un orden de magnitud mediante el uso de radiación polarizada para la excitación de trazas en matrices de luz.

La validación del método es el proceso utilizado para confirmar que el procedimiento analítico empleado para una prueba específica es adecuado para su uso previsto. Los resultados de la validación del método se pueden utilizar para evaluar la consistencia de los resultados analíticos, la calidad y la confiabilidad, también parte integral importante de cualquier buena práctica analítica. Cuando se extiende a un procedimiento analítico, dependiendo de la aplicación, significa que un método funciona reproduciblemente, cuando se lleva a cabo por una misma o diferentes personas, en el mismo o diferentes laboratorios, diferentes equipos, etc. la validación debe examinar la exactitud, precisión, límite de detección, etcétera.

La validez de un método específico debe ser demostrada en experimentos de laboratorio con muestras o estándares que son similares a las muestras desconocidas analizadas rutinariamente. La preparación y ejecución deben seguir un protocolo de validación. Todos los objetivos de este trabajo dependen de la estandarización de los métodos utilizados en PEDXRF espectrometría para el análisis de los helechos, musgo, agua, suelo y muestras de sedimentos.

El objetivo en la estandarización del método en este trabajo es encontrar la mejor exactitud y la precisión para el análisis de las diferentes matrices de muestra y las masas obtenidas desde el sitio geotérmico. En el PEDXRF Spectro XEPOS III (Spectro Analytical Instruments GmbH, Kleve, Alemania) que se utiliza en este trabajo, 4 g de la muestra en la fase sólida con tamaño de partícula  $\leq 100\mu\text{m}$  cargado en una copa de muestra de 24 mm de diámetro, es el procedimiento recomendado para mejores resultados. Sin embargo, en muestras biológicas o ambientales a menudo es difícil para ofrecer esa cantidad de la muestra. Por lo tanto, el objetivo en la parte estandarización de metodología del trabajo fue cuantificar los límites de exactitud y precisión, es decir los factores de mérito (FOM) del

espectrómetro PEDXRF para pequeñas masas y diferentes matrices usando los parámetros de enfoque fundamental del análisis cuantitativo XRF utilizando el software TURBOQUANT® (Spectro Analytical Instruments GmbH, Kleve, Alemania).

El método de estandarización para el análisis de elementos pesados y raros por PEDXRF es muy importante para asegurar la calidad de los trabajos. El método de validación para PEDXRF se hace mediante el uso de dos Materiales de referencia estándar (SRM) de cerámica y suelos, 98-una arcilla plástica (NIST, Maryland, EE.UU.) y polvos GSS-1 (NRCC, Beijing, China). Los dos MER diferían en sus propiedades de la matriz intrínsecas de tamaño de grano, y mayor densidad de monocapa de superficie, así como las concentraciones elementales.

La absorción de rayos X incidentes dependerá del área de la muestra, su profundidad, densidad y composición elemental de la misma. De las copas de muestra y de la matriz de diámetro fijo (es decir, área fija); la profundidad será dictada por la masa de la muestra y la densidad por el tipo de preparación de la muestra (en polvo o gránulo).

El flujo de fluorescencia de rayos X que llegan al detector se registrará por la medida de la auto-absorción por la muestra que dependerá de su profundidad y composición elemental. Si las copas de muestra o diámetros de las pastillas más pequeñas producen casi el mismo factor de mérito, a continuación, se pueden utilizar más pequeñas copas de muestra o masas de pastilla. Debido a la interacción de todos estos factores para muestras de diferentes composiciones elementales, es importante llevar a cabo experimentos específicos para entender los límites de exactitud y precisión en el análisis PEDXRF usando el instrumento específico (SPECTRO XEPOS III).

Las diferentes geometrías de los diámetros de la taza de muestra de 10, 15 (Chemplex Industries, Inc.) y 24 mm (Spectro Analytical Instruments GmbH, Kleve, Alemania) con el mismo espesor de la muestra y las diferentes masas y las relaciones de aspecto, así como masas bajas idénticas (0,5 g), pero con diferentes espesores, fueron analizadas. Además, se analizaron diferentes geometrías de los diámetros de las pastillas de 10, 15 y 25 mm con el mismo espesor de la muestra, y la densidad.

Pastillas prensadas de las muestras de polvo dieron mayor exactitud y precisión que el polvo para nosotros, la peletización de las pastillas redujo las interferencias de la matriz de inhomogeneidades, reducción de los efectos de superficie (alta influencia en la determinación de los elementos de luz) y la mejora de la absorción primaria de rayos x. Las formas definidas y las densidades más altas de pastillas mejoran la precisión de los elementos ligeros como Na-S. Para los elementos ligeros como Na-S, cuyos rayos x (fotoeléctrico) las secciones transversales de absorción son bajas, la mayor densidad de las pastillas son propensas a dar una mejor FOM. La peletización de las pastillas se concentró a ser necesaria para los análisis químicos cuantitativos defendibles para los elementos de

bajo número atómico. El diámetro de las pastillas de 25 mm tienen la mayor exactitud y precisión. Por lo tanto, la mayor parte de las muestras de Los Azufres se realizaron en forma de gránulos de 25 mm de diámetro polvo compacto sin cera y una muestra se realiza con cera. Además, uno de baja masa se analizó como el polvo, con la muestra de 10 mm de diámetro de la taza.

ICP-AES (o ICP-OES) es una técnica analítica utilizada para la detección de trazas de metales en muestras ambientales [41]. La técnica es exacta y precisa para las mediciones cualitativas y cuantitativas que implican sistemas químicos. ICP-OES es una de las técnicas más comunes para el análisis elemental. Su alta especificidad, la capacidad multi-elemento y buenos límites de detección (desde mediados de ppb hasta mediados de ppm) resultan en el uso de la técnica para gran variedad de aplicaciones [42].

Análisis de ICP-OES requiere que una muestra sea en solución, esto se puede lograr ya sea por un ataque ácido combinado empleando HF, HNO<sub>3</sub>, y ácidos HCl. Teniendo en cuenta el material de laboratorio y las precauciones necesarias para el uso de HF especial, los métodos de digestión de ácido más a menudo empleados no incluyen HF. El procedimiento de digestión ácido también da lugar a menudo en el análisis incompleto de elementos refractarios, tales como Ti, Cr, Zr y debido a que sus minerales huéspedes son a menudo difíciles de disolver [43]. Elementos estrechamente asociados con los materiales silíceos, tales como Al, Fe y Na no pueden estar completamente liberados de material sólido a la solución. La digestión incompleta ácido reduce la concentración de elementos traza disponibles en las muestras vegetales.

Los métodos PEDXRF no se comparan directamente con los métodos ICP-OES. Los métodos PEDXRF analizan cantidades totales del análisis, mientras que los métodos de ICP-OES analizan sólo los componentes digestibles de ácido o los elementos adsorbidos o móviles del análisis.

Helecho, musgo, tierra, sedimentos y muestras de agua de Los Azufres se recogieron de las rejillas de fumarolas o fuentes termales y sus regiones adyacentes. La temperatura ambiente, la humedad relativa y la intensidad de la luz se midieron para cada muestra de musgo y helechos.

Diferentes técnicas de análisis de seguimiento se llevaron a cabo para el suelo, los sedimentos, el agua, las muestras de helechos y musgo de Los Azufres, utilizando PEDXRF e ICP-OES. Análisis de las muestras de suelo, sedimentos, helechos y musgos para el total de concentraciones en elementos mayores y traza se realizaron mediante el uso de PEDXRF, mientras que el componente adsorbido de los elementos fueron realizadas por ICP-OES de muestras de suelo y sedimentos. En ICP-OES también se hizo uso del ácido digerido en muestras de helechos y musgos para cruzar comparaciones de las concentraciones totales de PEDXRF e ICP-OES. Las muestras de agua fueron tomadas de los mismos lugares de los sedimentos y fueron analizadas por ICP-OES.

Helecho, musgo, suelo, sedimento y el agua se vieron afectados por el sistema ecológico. Las muestras de helechos, musgo, agua, suelo y sedimentos analizados mostraron traza de alta, media y baja concentración de los mismos elementos pesados y raros dentro de las mismas. Cada muestra tiene características específicas y posee elementos particulares. De hecho, cada muestra es única con respecto a las concentraciones de elementos traza. Cada muestra de helecho y musgo tiene la capacidad de concentrar elementos traza específicos. No hay una especie de helecho o musgo que tengan la capacidad de acumular todos los elementos de interés. Por lo tanto cada especie helecho y musgo es un acumulador de un cierto tipo de elemento.

## AGRADECIMIENTOS

La presentación de esta tesis llega a su fin después de un período maravilloso de casi cuatro años, en el que yo era un estudiante de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán, México. En mi camino para completar esta tesis he experimentado muchos momentos felices, así como también obstáculos. Me gustaría dar las gracias a los que me dieron la fuerza y el coraje para continuar y seguir adelante.

En primer lugar, me gustaría dar las gracias a mi asesora, Prof. Dr. Nabanita Dasgupta-Schubert por su apoyo, comprensión, habilidades principales, la calidad de su trabajo y paciencia durante los últimos más de cuatro años de este proyecto. Sin su orientación como una gran mentora, este trabajo no hubiera sido posible, ha sido un honor ser su estudiante de doctorado, y agradezco todas sus contribuciones de tiempo, ideas y financiación para hacer de mi doctorado una experiencia productiva y estimulante. También me gustaría dar las gracias al co-asesor Prof. Dr. Luis Manuel Villaseñor Cendejas por dedicar un valioso tiempo, incansable apoyo, asesoramiento, seriedad y sentido durante esta investigación, la crítica constructiva, los fundamentos, las preguntas interesantes y el haber hecho una gran aportación a este trabajo. No podría haber sido más afortunado en mi elección de supervisores.

Los miembros de mi comité han sido una fuente indispensable de apoyo para mí. La calidez y sugerencias que recibí de ellos, me animaron a perseverar y continuamente se esfuerzan por mejorar mi trabajo. Por esta tesis me gustaría dar las gracias a los miembros del comité: Prof. Dr. Mario César Suárez Arriaga (FCFM), Prof. Dr. Sandra Leticia Bribiesca Vázquez (IIM), MC Felipe Rodrigo Cervantes (CFE), y M.C. Magaly Flores Armenta (CFE), por su apoyo, tiempo, interés y comentarios útiles.

Me siento muy privilegiado sinceramente, honrado y agradecido por haber trabajado con un gran equipo de la Comisión Federal de Electricidad, CFE: MC Magaly Flores Armenta, M.C. Felipe Rodrigo Cervantes, Biol. Eugenio Pastrana Melchor, Q.F.B. Fernando Sandoval Medina, Biol. Emigdio Espinoza Casimiro, Biol. Zirahuén Ortega Gómez y otros, por su apoyo en Los Azufres.

Me gustaría agradecer a la gente por el Instituto de Investigaciones Metalúrgicas, IIM: Dr. Carlos Alberto León Patiño, Dr. Víctor Hugo Garduño Monroy, MC María Remedios Cisneros Magaña, M.C. Héctor Damián Hernández Orozco, por su consejo y materiales suministrados.

También me gustaría agradecer a la gente de la Facultad de Biología: Dr. Daneb García Ávila, Dr. Partricia Silvia Saenz y Biol. Laura Nicolasa Suarez Soria, para su ayuda en identificar los musgos y helechos.

Estoy profundamente agradecido con el profesor Dr. Christian Schubert, por su tiempo, apoyo, construcción de las bases importantes, desarrollar y mejorar mi conocimiento, su guía y aliento.

Me gustaría reconocer al honorario Dr. Salomón Eduardo Borjas García por su apoyo, asesoramiento, administración, asistencia en el trabajo y en la vida social. Usted ha hecho mi vida más fácil en México, más agradable y sociable.

Esta investigación no hubiera sido posible sin el apoyo financiero del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACYT.

Mi más sincero agradecimiento a mis padres, sin el amor, el apoyo y el aliento de mi familia, esto habría sido un viaje muy difícil. Doy las gracias a mi padre por haberme enseñado buenos valores tales como el trabajo duro y el aprecio por el don de la vida; y a mi madre, sin la cual, no sería la persona que soy hoy.

Por último, pero no menos importante, me gustaría dar las gracias a usted, el lector. Cualquier obra escrita es una pérdida de tiempo y esfuerzo sin usted, y como tal, le doy las gracias por haber tomado este importante papel sobre sus hombros. Le doy las gracias, y espero que se divierta tanto la lectura de este trabajo como yo cuando la escribí.

Waleed Amin Ahmad Abuhani

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Agosto 2013



## TABLA DE CONTENIDO

|                                                                             |     |
|-----------------------------------------------------------------------------|-----|
| RESUMEN EXTENDIDO .....                                                     | i   |
| AGRADECIMIENTOS.....                                                        | vi  |
| LISTA DE TABLAS .....                                                       | xi  |
| LISTA DE FIGURAS .....                                                      | xii |
| CAPÍTULO 1: ANTECEDENTES Y MOTIVACIÓN .....                                 | 1   |
| 1.1 INTRODUCCIÓN .....                                                      | 1   |
| 1.2 LOS AZUFRES .....                                                       | 3   |
| 1.3 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.....                                      | 3   |
| 1.3.1 OBJETIVOS.....                                                        | 3   |
| 1.3.2 OBJETIVO DEL MÉTODO DE LA ESTANDARIZACIÓN.....                        | 3   |
| 1.4 COLABORADORES .....                                                     | 4   |
| 1.5 ESTRUCTURA Y PRESENTACIÓN DE LOS CAPÍTULOS.....                         | 4   |
| CAPÍTULO 2: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....                                     | 6   |
| 2.1 ESPECTROMETRÍA DE FLUORESCENCIA DE RAYOS X.....                         | 6   |
| 2.1.1 ESPECTROMETRÍA DE FLUORESCENCIA DE RAYOS X DE ENERGÍA DISPERSIVA..... | 6   |
| 2.1.2 PRINCIPIO EDXRF .....                                                 | 7   |
| 2.1.3 ¿POR QUÉ USAR LA POLARIZACIÓN? .....                                  | 9   |
| 2.1.4 GEOMETRÍA DE EXCITACIÓN POLARIZADA.....                               | 10  |
| 2.1.5 SISTEMA MULTI-OBJETIVOS .....                                         | 10  |
| 2.1.5.1 OBJETIVO DE LA FLUORESCENCIA .....                                  | 11  |
| 2.1.5.2 OBJETIVO BARKLA.....                                                | 12  |
| 2.1.5.2.1 MÉTODO DE POLARIZACIÓN EN EL OBJETIVO BARKLA .....                | 12  |
| 2.1.5.2.2 EL PRINCIPIO DEL OBJETIVO BARKLA.....                             | 14  |
| 2.1.5.3 OBJETIVO DE BRAGG DISPERSO .....                                    | 15  |
| 2.1.5.3.1 LEY DE BRAGG .....                                                | 15  |
| 2.1.5.3.2 PRINCIPIO DEL OBJETIVO DE BRAGG.....                              | 16  |
| 2.1.6 MATRIZ DE EFECTOS .....                                               | 17  |
| 2.1.7 SISTEMA DE DETECCIÓN .....                                            | 18  |
| 2.1.7.1 DETECTOR DE LLENADO DE GAS .....                                    | 19  |
| 2.1.7.2 DETECTOR DE CENTELLEO .....                                         | 19  |
| 2.1.7.3 SEMICONDUCTORES O DETECTOR DE ESTADO SÓLIDO.....                    | 20  |

|                                                                                                                                                                                                      |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.2 ESPECTROSCOPIA DE EMISIÓN ATÓMICA DE PLASMA ACOPLADO INDUCTIVAMENTE.....                                                                                                                         | 23 |
| 2.2.1 PRINCIPIO ICP-AES .....                                                                                                                                                                        | 24 |
| 2.2.2 INSTRUMENTACIÓN ICP-AES.....                                                                                                                                                                   | 25 |
| 2.3 CRITERIOS GENERALES PARA LA SELECCIÓN DE UNA TÉCNICA.....                                                                                                                                        | 27 |
| 2.3.1 CRITERIOS PARA LA SELECCIÓN DE UNA TÉCNICA DE ANÁLISIS.....                                                                                                                                    | 28 |
| 2.3.2 CÓMO SELECCIONAR LA TÉCNICA ADECUADA .....                                                                                                                                                     | 28 |
| 2.4 FITORREMEDIACIÓN .....                                                                                                                                                                           | 29 |
| 2.4.1 DEFINICIONES DE ESPECIES TOLERANTES, INDICADORAS, E HIPER –ACUMULADORAS.....                                                                                                                   | 33 |
| 2.4.2 ¿CÓMO ABSORBEN Y TRANSPORTAN LAS PLANTAS EL METAL?.....                                                                                                                                        | 34 |
| 2.4.3 SOLUBILIZACIÓN DEL METAL DE LA MATRIZ DEL SUELO.....                                                                                                                                           | 37 |
| 2.4.4 DESINTOXICACIÓN / QUELACIÓN .....                                                                                                                                                              | 37 |
| 2.4.5 SECUESTRO / VOLATILIZACIÓN .....                                                                                                                                                               | 37 |
| 2.4.6 APLICACIONES DE LA FITOREMEDIACIÓN .....                                                                                                                                                       | 38 |
| 2.4.6.1 DEGRADACIÓN .....                                                                                                                                                                            | 38 |
| 2.4.6.2 EXTRACCIÓN .....                                                                                                                                                                             | 39 |
| 2.4.6.3 CONTENCIÓN E INMOVILIZACIÓN.....                                                                                                                                                             | 39 |
| CAPÍTULO 3: VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS .....                                                                                                                                               | 40 |
| 3.1 INTRODUCCIÓN .....                                                                                                                                                                               | 40 |
| 3.1.1 FUNDAMENTO TEÓRICO DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS .....                                                                                                                               | 42 |
| 3.2 MATERIALES Y MÉTODOS .....                                                                                                                                                                       | 43 |
| 3.2.1 INSTRUMENTACIÓN.....                                                                                                                                                                           | 44 |
| 3.2.2 PREPARACIÓN DE MUESTRAS .....                                                                                                                                                                  | 45 |
| 3.3 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.....                                                                                                                                                                  | 48 |
| 3.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....                                                                                                                                                                     | 49 |
| 3.5 CONCLUSIONES .....                                                                                                                                                                               | 57 |
| CAPÍTULO 4: CARACTERIZACIÓN Y CONCENTRACIÓN DE ELEMENTOS TRAZA DEL SUELO RIZOSFÉRICO, LOS SEDIMENTOS Y EL AGUA EN Y / O CERCA DEL RESPIRADERO DE LAS FUMAROLAS Y AGUAS TERMALES EN LOS AZUFRES ..... | 58 |
| 4.1 INTRODUCCIÓN .....                                                                                                                                                                               | 58 |
| 4.2 MATERIALES Y MÉTODOS .....                                                                                                                                                                       | 61 |
| 4.2.1 INSTRUMENTACIÓN.....                                                                                                                                                                           | 61 |
| 4.2.2 LOS SITIOS DE MUESTREO.....                                                                                                                                                                    | 62 |
| 4.2.3 PREPARACIÓN DE MUESTRAS .....                                                                                                                                                                  | 64 |

|                                                                                                                                                                               |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.2.3.1 PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA SUELO DE LA RIZOSFERA Y SEDIMENTOS .....                                                                                                 | 65  |
| 4.2.3.2 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA DE AGUA.....                                                                                                                                | 68  |
| 4.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....                                                                                                                                              | 68  |
| 4.4 CONCLUSIONES .....                                                                                                                                                        | 82  |
| CAPÍTULO 5: CARACTERIZACIÓN Y CONCENTRACIÓN DE ELEMENTOS TRAZA EN MUSGOS Y HELECHOS EN Y/O CERCA DE<br>LOS RESPIRADEROS DE LAS FUMAROLAS Y AGUAS TERMALES DE LOS AZUFRES..... | 83  |
| 5.1 INTRODUCCIÓN .....                                                                                                                                                        | 83  |
| 5.1.1 FITORREMEDIACIÓN .....                                                                                                                                                  | 87  |
| 5.1.1.1 PLANTAS HIPER-ACUMULADORAS .....                                                                                                                                      | 88  |
| 5.1.2 OBJETIVOS.....                                                                                                                                                          | 89  |
| 5.2 MATERIALES Y MÉTODOS .....                                                                                                                                                | 89  |
| 5.2.1 INSTRUMENTACIÓN.....                                                                                                                                                    | 89  |
| 5.2.2 LAS DESCRIPCIONES DE LOS SITIOS .....                                                                                                                                   | 90  |
| 5.2.3 PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR LAS MUESTRAS .....                                                                                                                          | 91  |
| 5.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....                                                                                                                                              | 94  |
| 5.4. CONCLUSIONES .....                                                                                                                                                       | 112 |
| CAPÍTULO 6: CONCLUSIONES .....                                                                                                                                                | 114 |
| ANEXOS .....                                                                                                                                                                  | 118 |
| ANEXO 1: SPECTRO XEPOS III .....                                                                                                                                              | 118 |
| ANEXO 2: TURBOQUANT .....                                                                                                                                                     | 120 |
| ANEXO 3: MOLINO MEZCLADOR Mm 400 .....                                                                                                                                        | 121 |
| ANEXO 4: CRIBA.....                                                                                                                                                           | 123 |
| ANEXO 5: MORTERO Y PISTILO.....                                                                                                                                               | 124 |
| ANEXO 6: ¿CÓMO FUNCIONA LA PRENSA HIDRÁULICA? .....                                                                                                                           | 125 |
| ANEXO 7: LA PRODUCCIÓN DE PASTILLAS.....                                                                                                                                      | 127 |
| ANEXO 8: MUSGO.....                                                                                                                                                           | 129 |
| ANEXO 9: HELECHO .....                                                                                                                                                        | 130 |
| ANEXO 10: EXACTITUD Y PRECISIÓN.....                                                                                                                                          | 131 |
| BIBLIOGRAFÍA .....                                                                                                                                                            | 133 |

## LISTA DE TABLAS

|                                                                                                                                                                           |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabla 2- 1: Comparación de los factores de conversión de energía para los tipos de detector [38].                                                                         | 23 |
| Tabla 2- 2: Comparación entre XRF, ICP-AES y ICP-MS [50, 52, 49 y 46].                                                                                                    | 29 |
| Tabla 3- 1: Concentraciones SRMs para elementos.                                                                                                                          | 45 |
| Tabla 3- 2: Detalles de los diámetros de las tazas muestra; la misma profundidad física con diferentes pesos y diámetros para GSS-1 y 98a Arcilla Plástica.               | 48 |
| Tabla 3- 3: Detalles de los diámetros de las tazas de muestra; el mismo peso $t=0.5g$ con diferentes profundidades físicas y diámetros para GSS-1 y 98a Arcilla Plástica. | 49 |
| Tabla 3- 4: Detalles de los diámetros de Die; la misma profundidad física con diferentes pesos y diámetros, para GSS-1 y 98a Arcilla Plástica.                            | 49 |
| Tabla 3- 5: Comparación entre diferentes diámetros de las copas de muestra y pesos, con la misma profundidad física, para GSS-1 y 98a Arcilla Plástica.                   | 50 |
| Tabla 3- 6: Comparación entre diferentes diámetros de tazas de muestra y profundidad física con el mismo peso = $0.5g$ ; para GSS-1 y 98a Arcilla Plástica.               | 52 |
| Tabla 3- 7: Comparación entre los diferentes diámetros de die y pesos, con la misma profundidad física para GSS-1 y 98a Arcilla Plástica.                                 | 55 |
| Tabla 4- 1: Mapa de coordenadas.                                                                                                                                          | 64 |
| Tabla 4- 2: Nombres de las plantas de cada muestra de tierra de la rizósfera.                                                                                             | 65 |
| Tabla 4- 3: Sitios y fechas de muestreo para cada muestra de tierra y sedimento.                                                                                          | 67 |
| Tabla 4- 4: Peso, densidad y profundidad física para cada pastilla de suelo y sedimento.                                                                                  | 67 |
| Tabla 4- 5: Locación y fecha de muestreo para agua/sedimento/tierra                                                                                                       | 68 |
| Tabla 4- 6: Comparación de la concentración de elementos traza químicos entre las muestras de suelos y sedimentos con la Corteza Terrestre.                               | 79 |
| Tabla 5- 1: Sitio y fecha de Muestreo y nota para la locación de muestreo de los helechos.                                                                                | 92 |
| Tabla 5- 2: Sitio de Muestreo, fecha de muestreo y nota de la locación de muestreo para las muestras de musgo.                                                            | 92 |
| Tabla 5- 3: Detalles de las pastillas para cada muestra de helecho.                                                                                                       | 93 |
| Tabla 5- 4: Detalles de la pastilla para cada muestra de musgo.                                                                                                           | 94 |
| Tabla 5- 5: Nombre científico de las muestras de helecho correlacionadas con la parte del helecho.                                                                        | 95 |
| Tabla 5- 6: Nombre científico de las muestras de musgo.                                                                                                                   | 95 |
| Tabla 5- 7: Diferentes parámetros medidos en los sitios para las muestras de helechos.                                                                                    | 96 |
| Tabla 5- 8: Diferentes parámetros medidos en los sitios para las muestras de los musgos.                                                                                  | 97 |

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 2- 1: Proceso de dos pasos para XRF.....                                                                                                                                                                                                                                                                          | 8  |
| Figura 2- 2: Rayos X característicos o secundarios producidos por los rayos X primarios.....                                                                                                                                                                                                                             | 8  |
| Figura 2- 3: Diagrama esquemático de una onda electromagnética que se propaga a una velocidad C en la<br>dirección x. El campo eléctrico E vibra en el plano xy, y el campo magnético B vibra en el plano xz. ....                                                                                                       | 9  |
| Figura 2- 4: EDXRF diferente con a) la excitación directa y b) EDXRF con excitación polarizada (PEDXRF).....                                                                                                                                                                                                             | 9  |
| Figura 2- 5: Geometría de excitación polarizada para PEDXRF.....                                                                                                                                                                                                                                                         | 10 |
| Figura 2- 6: La geometría básica de la excitación objetivo secundario. ....                                                                                                                                                                                                                                              | 11 |
| Figura 2- 7: De rayos X a partir de un objetivo de tungsteno a 100 kV, la comparación entre rayos x continuos y<br>característicos. ....                                                                                                                                                                                 | 12 |
| Figura 2- 8: Una representación esquemática del principio detrás de la polarización a través de la dispersión<br>Barkla. ....                                                                                                                                                                                            | 13 |
| Figura 2- 9: Demostración de la ley de Bragg. ....                                                                                                                                                                                                                                                                       | 15 |
| Figura 2- 10: Absorción y mejora. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 17 |
| Figura 2- 11: Diagrama esquemático de un detector de llenado de gas. ....                                                                                                                                                                                                                                                | 19 |
| Figura 2- 12: Acumulación de un detector de centelleo.....                                                                                                                                                                                                                                                               | 20 |
| Figura 2- 13: Tipos de los semiconductores; diagrama esquemático que muestra únicamente la capa de valencia de<br>electrones para ilustrar intrínseca, tipo p y semiconductores de tipo n. ....                                                                                                                          | 21 |
| Figura 2- 14: P-N unión o diodo. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 22 |
| Figura 2- 15: Principio de la construcción de un detector de estado sólido pin junto con su lectura por<br>preamplificador de carga sensible. ....                                                                                                                                                                       | 23 |
| Figura 2- 16: Los principales componentes y el diseño de un instrumento ICP-AES típico. ....                                                                                                                                                                                                                             | 26 |
| Figura 2- 17: Sección transversal esquemática de un ICP.....                                                                                                                                                                                                                                                             | 27 |
| Figura 2- 18: Principio de Fitorremediación. ....                                                                                                                                                                                                                                                                        | 30 |
| Figura 2- 19: La excavación de un sitio contaminado con metales, explosivos, compuestos volátiles y semi-volátiles;<br>suelo antes (izq.) y después (der.) de la limpieza. ....                                                                                                                                          | 30 |
| Figura 2- 20: Caminos de agua dentro de las células, diferentes fotos para diferentes vías: por el apoplasto,<br>simplástica y transcelular.....                                                                                                                                                                         | 35 |
| Figura 2- 21: Camino de metales / absorción de nutrientes en las plantas.....                                                                                                                                                                                                                                            | 35 |
| Figura 2- 22: Diagramas esquemáticos de una raíz joven: (a) sección longitudinal, que indica las zonas que pueden<br>ocurrir cerca de la punta de la raíz, y (b) vista en sección transversal de nuevo aproximadamente 10 mm<br>desde la punta, lo que indica la disposición de los diversos tipos de células [68]. .... | 36 |
| Figura 2- 23: sección transversal esquemática a través de una hoja, lo que indica la disposición de los diversos<br>tipos de células. Con frecuencia de 30 a 40 células del mesófilo se producen por estoma [68]. ....                                                                                                   | 36 |
| Figura 2- 24: Representación esquemática de una célula madura mesófila de la hoja de una planta floreciente, lo<br>que sugiere parte de la complejidad que resulta de la presencia de muchas membranas rodeadas de<br>compartimentos subcelulares [68]. ....                                                             | 38 |
| Figura 3- 1: Tazas de muestra de diferentes diámetros 24, 15 and 10mm. ....                                                                                                                                                                                                                                              | 46 |
| Figura 3- 2: Dado de diferentes diámetros 10, 15 and 25mm. ....                                                                                                                                                                                                                                                          | 46 |
| Figura 3- 3: Pastillas de diferentes diámetros 25, 15 and 10mm. ....                                                                                                                                                                                                                                                     | 46 |
| Figura 3- 4: Comparación entre el factor de exactitud y precision contra Z para cada elemento en GSS-1; la misma<br>profundidad para diferentes diámetros en copas de muestra y pesos. ....                                                                                                                              | 50 |
| Figura 3- 5: Comparación entre el factor de exactitud y precision contra Z para cada elemento de Arcilla Plástica<br>98a; la misma profundidad para diferentes diámetros en copas de muestra y pesos. ....                                                                                                               | 51 |

|                                                                                                                                                                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 3- 6: Comparación entre el factor de exactitud y precision contra Z para cada element en GSS-1; el mismo peso = 0.5g, con diferentes diámetros de taza de muestra y profundidad física. ....               | 52 |
| Figura 3- 7: Comparación entre el factor de exactitud y precision contra Z para cada element en Arcilla Plástica 98a; el mismo peso = 0.5g, con diferentes diámetros de taza de muestra y profundidad física..... | 53 |
| Figura 3- 8: Comparación entre factores de exactitud y precisión ccontra Z para cada elemento en GSS-1; la misma profundidad física para diferentes diámetros de die y pesos. ....                                | 55 |
| Figura 3- 9: Comparación entre factores de exactitud y precisión ccontra Z para cada elemento en Arcilla Plástica 98a; la misma profundidad física para diferentes diámetros de die y pesos. ....                 | 55 |
| Figura 4- 1: Nopalito I. ....                                                                                                                                                                                     | 62 |
| Figura 4- 2: Cumbres I. ....                                                                                                                                                                                      | 63 |
| Figura 4- 3: Cumbres II. ....                                                                                                                                                                                     | 63 |
| Figura 4- 4: Laguna Verde. ....                                                                                                                                                                                   | 63 |
| Figura 4- 5: Locación de los cuatro sitios en Los Azufres. ....                                                                                                                                                   | 64 |
| Figura 4- 6: Pastillas de las muestras de sedimentos 5 y 6. ....                                                                                                                                                  | 66 |
| Figura 4- 7: Pastillas de las muestras de tierra 6 y 7. ....                                                                                                                                                      | 66 |
| Figura 4- 8: Comparación de elementos traza de las muestras de suelo de diferentes locaciones con los mismos elementos utilizando PEDXRF, y elementos Si, Fe, Al, Ti y Ga. ....                                   | 69 |
| Figura 4- 9: Comparación de elementos traza para de las muestras de suelo de diferentes locaciones con los mismos elementos utilizando PEDXRF y los elementos K, S, P, Ba, Mn. ....                               | 69 |
| Figura 4- 10: Comparación de elementos traza para de las muestras de suelo de diferentes locaciones con los mismos elementos utilizando PEDXRF y los elementos Zr, Sr, V, Cr y Zn. ....                           | 70 |
| Figura 4- 11: Comparación de elementos traza para muestras de suelo de diferentes locaciones con los mismos elementos utilizando PEDXRF y elementos Cl, Nd, Ni, Ga y Cu. ....                                     | 70 |
| Figura 4- 12: Comparación de elementos traza para muestras de suelo de diferentes locaciones con los mismos elementos, utilizando PEDXRF y los elementos Nb, Y, As, La y Co. ....                                 | 71 |
| Figura 4- 13: Comparación de elementos traza para muestras de suelo de diferentes locaciones con los mismos elementos, utilizando PEDXRF y los elementos Hg, Rb, Pb, Sn y Th. ....                                | 71 |
| Figura 4- 14: Comparación de elementos traza para muestras de suelo de diferentes locaciones con los mismos elementos, utilizando PEDXRF y los elementos Sb, Te, Hf, Mo y I. ....                                 | 72 |
| Figura 4- 15: Comparación de elementos traza para muestras de suelo de diferentes locaciones con los mismos elementos, utilizando PEDXRF y los elementos Ce, Pr, Br, Ag y W. ....                                 | 72 |
| Figura 4- 16: Comparación de elementos traza para muestras de suelo de diferentes locaciones con los mismos elementos, utilizando PEDXRF y los elementos Ta, U, Cd and Se. ....                                   | 73 |
| Figura 4- 17: Comparación de elementos traza para muestras de sedimentos de diferentes locaciones con los mismos elementos, utilizando PEDXRF y los elementos Si, Al, S, Fe y Ti. ....                            | 73 |
| Figura 4- 18: Comparación de elementos traza para muestras de sedimentos de diferentes locaciones con los mismos elementos, utilizando PEDXRF y los elementos K, Ca, P, Ba y Mn. ....                             | 74 |
| Figura 4- 19: Comparación de elementos traza para muestras de sedimentos de diferentes locaciones con los mismos elementos, utilizando PEDXRF y los elementos Cl, Zr, Sr, V y Cr. ....                            | 74 |
| Figura 4- 20: Comparación de elementos traza para muestras de sedimentos de diferentes locaciones con los mismos elementos, utilizando PEDXRF y los elementos Nd, Zn, Ni, Ce y Rb. ....                           | 75 |
| Figura 4- 21: Comparación de elementos traza para muestras de sedimentos de diferentes locaciones con los mismos elementos, utilizando PEDXRF y los elementos Y, Ga, Cu, As y Co. ....                            | 75 |
| Figura 4- 22: Comparación de elementos traza para muestras de sedimentos de diferentes locaciones con los mismos elementos, utilizando PEDXRF y los elementos Nb, Pb, Hg, Sn y Th. ....                           | 76 |

|                                                                                                                                                                                                    |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 4- 23: Comparación de elementos traza para muestras de sedimentos de diferentes locaciones con los mismos elementos, utilizando PEDXRF y los elementos La, Hf, Mo, W y U.....               | 76  |
| Figura 4- 24: Comparación de elementos traza para muestras de sedimentos de diferentes locaciones con los mismos elementos, utilizando PEDXRF y los elementos Br, Sb y Se. ....                    | 77  |
| Figura 4- 25: Comparación de elementos traza para las muestras de suelo de diferentes locaciones con los mismos elementos utilizando ICP-AES y los elementos Fe, Al, S, K, P y B. ....             | 79  |
| Figura 4- 26: Comparación de elementos traza para las muestras de sedimentos de diferentes locaciones con los mismos elementos utilizando ICP-AES y los elementos S, Fe, Al, K, P and B. ....      | 80  |
| Figura 4- 27: Comparación de elementos traza para las muestras de agua de diferentes locaciones con los mismos elementos utilizando ICP-AES y los elementos S, Fe, B, K, Al y P. ....              | 80  |
| Figura 4- 28: Comparación de la concentración de la proporción (ICP-AES/PEDXRF) para las muestras de suelo de diferentes locaciones con los mismos elementos, elementos Fe, S, P, Al y K.....      | 81  |
| Figura 4- 29: Comparación de la concentración de la proporción (ICP-AES/PEDXRF) para las muestras de sedimento de diferentes locaciones con los mismos elementos, elementos Fe, S, P, K y Al. .... | 81  |
| Figura 5- 1: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de helechos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Si, Al, Fe, K y Ca. ....                          | 98  |
| Figura 5- 2: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de helechos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos S, P, Ti, Cl y Cr. ....                           | 98  |
| Figura 5- 3: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de helechos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Mn, Ba, Zn, Rb y Sr. ....                         | 99  |
| Figura 5- 4: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de helechos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Cu, Pb, Nd, Ni y Ag. ....                         | 99  |
| Figura 5- 5: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de helechos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Br, Sn, Te, Sb y Pr. ....                         | 100 |
| Figura 5- 6: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de helechos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Zn, V, Ga, Th y Cd. ....                          | 100 |
| Figura 5- 7: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de helechos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos As, I, Hg, Nb y Mo.....                           | 101 |
| Figura 5- 8: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de helechos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Y, Hf, Tl, Bi y Se.....                           | 101 |
| Figura 5- 9: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de helechos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Co, Ta, W y U.....                                | 102 |
| Figura 5- 10: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de musgos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Si, Al, Fe, Ca y S. ....                           | 103 |
| Figura 5- 11: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de musgos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Ti, K, P, Cu y Cl. ....                            | 104 |
| Figura 5- 12: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de musgos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Ba, Zr, Zn, Cr y Sr. ....                          | 104 |
| Figura 5- 13: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de musgos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Mn, V, Nd, Br y Sn. ....                           | 105 |
| Figura 5- 14: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de musgos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Pb, Y, Te, Sb y Ta. ....                           | 105 |
| Figura 5- 15: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de musgos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Ni, Ga, Nb, As y Th.....                           | 106 |
| Figura 5- 16: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de musgos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Rb, Hg, W, U y Tl.....                             | 106 |

|                                                                                                                                                                                                  |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 5- 17: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de musgos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Pr, I, Cd, Mo y Se. ....                         | 107 |
| Figura 5- 18: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de musgos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Co, Ag y Ce. ....                                | 107 |
| Figura 5- 19: Comparación de elementos traza de muestras de helechos de diferentes locaciones con los mismos elementos, utilizando ICP-OES, elementos Al, Fe, K, S, P y B.....                   | 109 |
| Figura 5- 20: Comparación de elementos traza de muestras de musgos de diferentes locaciones con los mismos elementos, utilizando ICP-OES, elementos Fe, Al, K, S, P, B y Pb.....                 | 110 |
| Figura 5- 21: Comparación de la proporción de la concentración (ICP-OES/PEDXRF) para muestras de helecho de diferentes locaciones con los mismos elementos, elementos P, S, Al, K y Fe. ....     | 111 |
| Figura 5- 22: Comparación de la proporción de la concentración (ICP-OES/PEDXRF) para muestras de helecho de diferentes locaciones con los mismos elementos, elementos Pb, K, Fe, S, Al y P. .... | 111 |
| Figura A- 1: El principio de SPECTRO XEPOS III y partes principales; tubo ortogonal de x-ray, objetivo secundario, configuración de la muestra y detector para producir x-ray polarizados.....   | 119 |
| Figura A- 2: Molino Mezclador MM 400.....                                                                                                                                                        | 121 |
| Figura A- 3: Oscilaciones en posición horizontal para las pelotas y jarras molidoras. ....                                                                                                       | 122 |
| Figura A- 4: Tamices de diferente tamaño de hoyos. ....                                                                                                                                          | 123 |
| Figura A- 5: Mortero y Pistilo.....                                                                                                                                                              | 124 |
| Figura A- 6: Prensa hidráulica. ....                                                                                                                                                             | 125 |
| Figura A- 7: Principio de la prensa hidráulica. ....                                                                                                                                             | 125 |
| Figura A- 8: Pastilla. ....                                                                                                                                                                      | 127 |
| Figura A- 9: Procedimiento para hacer una pastilla sin cera. ....                                                                                                                                | 127 |
| Figura A- 10: Procedimiento para hacer una pastille con cera. ....                                                                                                                               | 128 |
| Figura A- 11: Dado diámetro de 25mm. ....                                                                                                                                                        | 128 |
| Figura A- 12: Musgo.....                                                                                                                                                                         | 129 |
| Figura A- 13: Helecho.....                                                                                                                                                                       | 130 |
| Figura A- 14: Práctica del objetivo, demostrando la diferencia entre exactitud y precisión. ....                                                                                                 | 132 |



## CAPÍTULO 1: ANTECEDENTES Y MOTIVACIÓN

### 1.1 INTRODUCCIÓN

Las áreas geotérmicas son el hogar de colecciones distintas y únicas de plantas, animales y microorganismos. Algunas de estas especies son muy valiosas para la ciencia a causa de sus adaptaciones a las temperaturas extremas y ambientes tóxicos. Las plantas, animales y microorganismos que viven en las áreas geotérmicas deben ser capaces de sobrevivir a condiciones extremas de la temperatura, la acidez y la alcalinidad, turbidez, toxicidad, por ejemplo, acidez del agua puede alcanzar un pH de 2,2. Muchas de las especies que se encuentran en áreas geotérmicas están especialmente adaptadas a florecer en esas condiciones hostiles. Algunas de ellas son endémicas de áreas geotérmicas. Hay pocos estudios sobre las plantas, animales y microorganismos que viven en zonas geotérmicas. En efecto, se sabe poco acerca de la magnitud, la singularidad y la diversidad de los seres vivos que se encuentran en áreas geotérmicas vírgenes [1].

Las fuentes termales son formas de agua que naturalmente surgen del subsuelo, aguas que se calientan de la energía geotérmica activa. Esto sucede cuando la tierra debajo se calienta con la desintegración radiactiva, la fricción de la formación natural en la corteza terrestre, o el calor de contenido de metales pesados naturales de la Tierra [2]. Donde las fumarolas de vapor y gas son los respiraderos que son comunes en las laderas de volcanes activos, así también los campos geotérmicos mantienen temperaturas que son generalmente cerca del punto de ebullición del agua [3].

La vida del agua geotérmica se inicia como el agua de lluvia, que se filtra a través de grietas en la roca hacia una fuente de calor en lo profundo de la tierra. El agua caliente es menos densa que el agua fría, por lo que se eleva y emerge en la superficie de la tierra, a veces en forma de vapor o mezclados con vapor de agua. El agua caliente reacciona con la roca cuando entran en contacto, y se enriquece con minerales disueltos. Los fluidos geotérmicos son fuentes potencialmente significativas de minerales y metales valiosos. Los componentes químicos de los fluidos geotérmicos están determinadas por su origen (por ejemplo meteórica, agua de mar, magmático), los tipos de roca con la que han reaccionado a lo largo de la trayectoria del flujo, la temperatura de esas interacciones, y la química del fluido. Procesos reservorios tales como mezclarse y hervir, también impacta la química de los fluidos; la química de los fluidos de la muestra en la superficie por lo tanto, refleja su historia química y física; ciertos elementos pueden ser especialmente indicativos de su fuente, por ejemplo, frecuencia de litio, cesio y rubidio también han sido enriquecidos en fluidos alojados por rocas volcánicas ricas en sílice de [4].

Las condiciones ambientales distintivas asociadas con los sitios geotérmicos permiten que conjuntos inusuales y raras especies de plantas se establezcan y adapten [5]; aquellas plantas que se han adaptado a condiciones extremas en aguas termales y las zonas de fumarolas existen en varios sitios de México. Esta es una característica única de la ecología de las zonas geotérmicas que no han sido suficientemente estudiadas en México.

Hay un fuerte y creciente interés científico en cómo los habitantes de las áreas geotérmicas se adaptan a vivir en algunas de las condiciones más extremas de la Tierra. La capacidad de las plantas extremófilas cerca de las fuentes termales, de acumular metales pesados y la tolerancia que desarrollan, las hace interesante objeto de estudio de la biotecnología ambiental de fitorremediación. La planta hiper-acumuladora utiliza raíces para absorber los contaminantes metálicos del suelo y les traslada a las partes de la planta que está por encima del suelo. Una vez que las plantas han crecido y que absorben el metal se cosechan y se eliminan de forma segura. Este proceso se repite varias veces para reducir la contaminación (metales pesados) a niveles aceptables [6].

El mecanismo de la adaptación de las plantas a condiciones tan extremas y su mecanismo de acumulación de metales pesados y la tolerancia no es suficientemente conocido. Posiblemente, la estructura de la pared celular contiene componentes capaces de soportar altas temperaturas, tales como el sílice ( $\text{SiO}_2$ ) y el mecanismo de acumulación puede implicar sólo transporte pasivo, tales como el movimiento a través de la difusión o potencial osmótico. Procesos activos en el transporte de iones de metal a través de la membrana celular donde la energía metabólica está implicada pueden no ser operativos en estas plantas, aunque este hecho no se conoce con certeza. Entender el mecanismo de transporte del metal en términos de la localización de los sitios de acumulación dentro de la planta y de la cinética del transporte y cómo las condiciones ambientales extremas afectan a estas dos características, son cruciales para la utilización de estas plantas como el modelo bio-estructural de las condiciones de vida extremas y su uso en la fitorremediación.

Manantiales geotérmicos y fumarolas de Los Azufres investigados en el presente estudio representan el medio ambiente de la Tierra primitiva y ofrecen una ventana a un pasado lejano. Áreas geotérmicas imitan las condiciones de la tierra primitiva. Las plantas se adaptan a las condiciones que posiblemente imitan a las de la Tierra primitiva y otros planetas similares a la Tierra. Los Azufres es una locación muy atractiva para las investigaciones y estudios.

## 1.2 LOS AZUFRES

El volcán de Los Azufres se encuentra en el centro de México 200 kilómetros NW de la ciudad de México. El volcán contiene aguas termales y fumarolas, estas están situadas a lo largo de fallas orientadas EW, y Los Azufres es un campo geotérmico de producción activa. Los Azufres es un sistema hidrotermal volcánico fuertemente fracturado y fallado en la parte norte de la Eje Volcánico Transversal Mexicano, a 80 km al este de la ciudad de Morelia. El centro de Los Azufres se compone de una caldera del Pleistosceno Temprano de 10 x 20 km de ancho que más tarde fue parcialmente llenado por el resurgimiento de domos de lava dacítica a riolítica, y la elevación de la cumbre es igual a 3400m. El área geotérmica ha sido objeto de explotación comercial para generar electricidad a partir de 1982 [7 y 8].

## 1.3 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

### 1.3.1 OBJETIVOS

- 1 - Trazar las plantas geotérmicas (helechos y musgos) que crecen en las fumarolas y aguas termales de Los Azufres, Michoacán, México por su capacidad de concentrar metales pesados.
- 2 - Analizar los elementos en el suelo, los sedimentos y muestras de agua y correlacionarse con la composición de la planta (helechos y musgos).
- 3 - Analizar la distribución morfológica de los elementos de la planta (raíces y resto de la planta).
- 4 - Medir las variables ambientales apropiadas, tales como la temperatura, humedad relativa, intensidad de la luz y el pH.
- 5 - Utilizar estas variables para modelar los posibles cambios en la composición y la estructura de la planta con la variación ambiental.
- 6 - Determinar qué variables ambientales están más fuertemente correlacionados con la composición de la planta y la estructura.
- 7 - Descubrir qué plantas (helechos y musgos) se puede utilizar para eliminar los elementos pesados específicos.

### 1.3.2 OBJETIVO DEL MÉTODO DE LA ESTANDARIZACIÓN

La validación del método es el proceso utilizado para confirmar que el procedimiento analítico empleado para una prueba específica es adecuado para su uso

previsto. Los resultados de la validación del método se pueden utilizar para evaluar la calidad, la confiabilidad y la consistencia de los resultados analíticos. Es una parte integral de cualquier práctica analítica buena. Cuando está extendido a un procedimiento analítico, dependiendo de la aplicación, significa que un método funciona y es reproducible, cuando se lleva a cabo por el mismo o diferentes personas, en el mismo o diferentes laboratorios, diferentes equipos, etc. [9]. La validación debe examinar: exactitud, precisión, límite de detección, etc. La validez de un método específico debe ser demostrada en experimentos de laboratorio con muestras o estándares que son similares a las muestras desconocidas analizadas rutinariamente. La preparación y ejecución deben seguir un protocolo de validación [9]. Todos los objetivos de este trabajo dependen del método de estandarización para el análisis de las muestras de helechos, musgo, suelo, sedimentos y agua.

El objetivo del método de estandarización para este trabajo es encontrar la mejor técnica en exactitud y precisión de la preparación y el análisis de las muestras. Diferentes experimentos se hicieron para alcanzar este objetivo mediante el uso de diferentes materiales estándares de referencia.

#### **1.4 COLABORADORES**

Muchos son los grupos de diferentes institutos, departamentos y CFE, que participan, todos los colaboradores hacen parte o apoyan este trabajo. Los grupos de colaboración son las siguientes: A) Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (México), los institutos y departamentos colabora son: 1) Instituto de Física y Matemáticas, IFM, 2) Instituto de Investigaciones Químico -Biológicas, IIQB; 3) Facultad de Biología; 4) Instituto de Investigaciones Metalúrgicas, IIM; 5) Facultad de Física y Matemáticas; B) Comisión Federal de Electricidad, CFE (México); C) de la Universidad de Texas (EE.UU.), D) Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung GmbH [English: Helmholtz Centre for Environmental Research GmbH], UFZ (Alemania).

#### **1.5 ESTRUCTURA Y PRESENTACIÓN DE LOS CAPÍTULOS**

La tesis se estructura en seis capítulos, conectándose a los objetivos de la investigación, parte de la tesis doctoral no se menciona en la tesis, pero esa parte será publicada como obra independiente. Una breve descripción del capítulo esbozado se proporciona a continuación.

En el capítulo dos, se presentan introducción, antecedentes y esquemas teóricos de la tesis. Los marcos proporcionaron información sobre el contexto del estudio de doctorado: primero, el principio general de técnicas PEDXRF y ICP-AES, y la comparación entre las diferentes técnicas, donde el PEDXRF se explica en detalle; segundo, el principio

de la fitorremediación; biología general y la descripción de ingeniería para la fitorremediación.

En el capítulo tres, el método de análisis para la validación de la espectrometría de PEDXRF, en la mayoría de las muestras ambientales, la cantidad y el peso de la masa son menor así como en nuestras muestras, el mejor protocolo y método para el análisis de las muestras es nuestro objetivo en este capítulo, el mejor protocolo será compañero en los próximos capítulos, y en el laboratorio para otras muestras.

En el capítulo cuatro, los resultados del análisis de las muestras de suelo, sedimentos y agua recogidas de Los Azufres, se les hace análisis químico de elementos traza por espectrometría PEDXRF de muestras de suelo y sedimentos, y espectrometría ICP-AES de suelos, sedimentos y muestras de agua. Las muestras recogidas en / y cerca de las rejillas de fumarolas y aguas termales.

En el capítulo cinco, los resultados del análisis de las muestras de helechos y musgos recogidos de Los Azufres, elementos químicos análisis de trazas por PEDXRF y ICP-AES espectrometría. Las muestras recogidas en / y cerca de las rejillas de fumarolas y aguas termales.

En el capítulo seis, las conclusiones generales resumidas de la tesis de las plantas hiper-acumuladoras en Los Azufres que se encontraron; comparación entre diferentes técnicas para el análisis de elementos traza químicos de las muestras ambientales, y qué técnica es la mejor, ¿Por qué los resultados de la concentración de elementos traza son diferentes entre PEDXRF y ICP-AES?

Con el fin de apoyar el trabajo, varios anexos se proporcionan: SPECTRO XEPOS III, TURBOQUANT, molino mezclador MM 400, tamiz, mortero, cómo funciona la prensa hidráulica, la producción de pastillas, el musgo, los helechos, y la exactitud y precisión.

## **CAPÍTULO 2: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 ESPECTROMETRÍA DE FLUORESCENCIA DE RAYOS X**

La Espectrometría de Fluorescencia de rayos X (XRF) combina la máxima exactitud y precisión con una técnica analítica no destructiva, la preparación de muestras es sencilla y rápida para el análisis de los elementos desde Na (WDXRF empezando por Be) hasta U en el rango de concentraciones de 100% a la sub-ppm-nivel [10, 11, 12, y 13]. El método fue usado para identificar y determinar las concentraciones de los elementos presentes en las muestras de sólidos, líquidos y en polvo [14 y 15]. La espectrometría de fluorescencia de rayos X es una técnica de análisis elemental con una amplia aplicación en la ciencia y la industria [11 y 16]. Las aplicaciones son muy amplias e incluyen el metal, cemento, aceite, polímeros, industrias del plástico y los alimentos, la mineralogía, la geología y el análisis ambiental de agua y materiales de desecho. XRF es también una técnica muy útil para la investigación y la farmacéutica [17, 18 y 19].

La mayoría de los instrumentos XRF en uso hoy en día se dividen en dos categorías: de energía dispersiva y espectrómetros de dispersión de longitud de onda. Dentro de estas dos categorías hay una enorme variedad de diferentes configuraciones, las fuentes de rayos-x, la óptica y las tecnologías de detección [17 y 18].

#### **2.1.1 ESPECTROMETRÍA DE FLUORESCENCIA DE RAYOS X DE ENERGÍA DISPERSIVA**

La Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X de Energía Dispersiva (EDXRF) es una técnica analítica utilizada para el análisis de elementos o caracterización química de una muestra [20]. Además que es método particularmente aplicable al análisis cualitativo y cuantitativo de bajas concentraciones de elementos en amplio rango de muestras, así como permite el análisis de elementos en materiales concentraciones más altas [21].

¿Qué es lo bueno de EDXRF? [16]:

- No es destructivo y es fiable: En la gran mayoría de los casos, las muestras analizadas no se destruyen o cambian por la exposición a los rayos x. De este modo, se pueden guardar para futuras consultas o emplearlos para otros tipos de pruebas que pueden ser destructivas.
- Un mínimo de preparación: Muchas muestras pueden ser examinadas con poco o ningún tratamiento previo. Muchas de las técnicas alternativas requieren procedimientos de disolución que son a la vez tardados y costosos en términos de los ácidos u otros reactivos necesarios.

- Rápido: la espectrometría de rayos X permite determinar en poco tiempo a los compuestos químicos.
- Fácil de usar: los instrumentos modernos se ejecutan bajo control de la computadora, con un software eficaz para manejar la medida puesta en marcha y el cálculo de los resultados.
- Rentable: Sin la preparación de la muestra más involucrada necesaria en todos los análisis de XRF y aquellos que son destructivos, el costo se reduce significativamente por muestra (método analítico económico).
- Buena precisión y exactitud.
- El análisis multi-elemento por disparo, dependerá si las necesidades de análisis son cualitativos o cuantitativos.
- Aplicable en un amplio intervalo de concentraciones, los niveles de traza a menudo por debajo de una parte por millón y hasta el 100%.
- Rango de Elemento: 11N - 92U.

### 2.1.2 PRINCIPIO EDXRF

La técnica EDXRF es un proceso de dos etapas que comienza con rayos X (o rayos gamma) producidos por una fuente incidente que son concentrados y guiados a la muestra. Algunos de estos rayos X pasarán a través de la muestra, pero algunos se reflejarán en su superficie. Cuando los fotones incidentes entran en la muestra y chocan con los electrones presentes en los átomos, reacciones físicas ocurren causando la eliminación de la cáscara de un electrón en el interior de un átomo (figura 2-1). El vacío es ocupado por un electrón de cáscara externa. El segundo paso es la transición desde el electrón de cáscara externa orbital a un interior capa de electrones orbitales. Esta transición es acompañada por la emisión de rayos X secundarios o los rayos X característicos que golpean un detector. La energía del fotón fluorescente es característica del elemento y que es igual a la diferencia de energía entre los dos niveles de energía de los electrones. Así, la energía del fotón fluorescente proporciona información cualitativa relativa a la identidad de los elementos (figura 2-2). El número o la intensidad de los fotones fluorescentes es característica de la cantidad o concentración de los elementos presentes [17, 18, y 19].

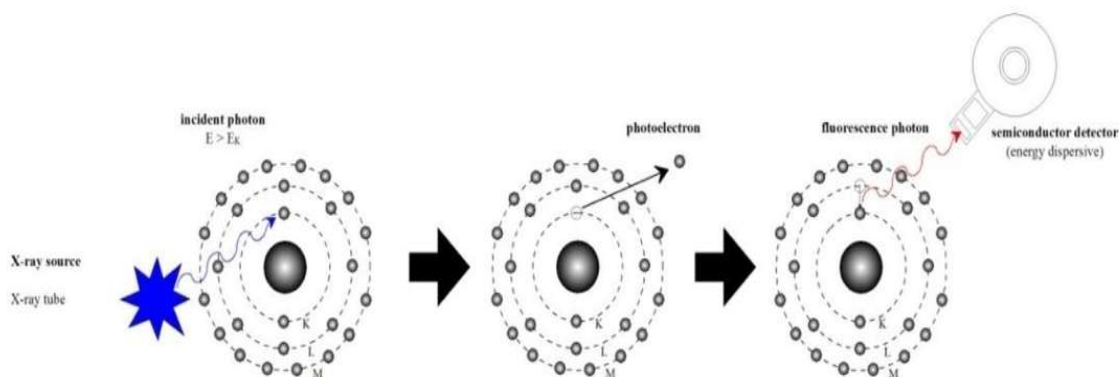


Figura 2- 1: Proceso de dos pasos para XRF.

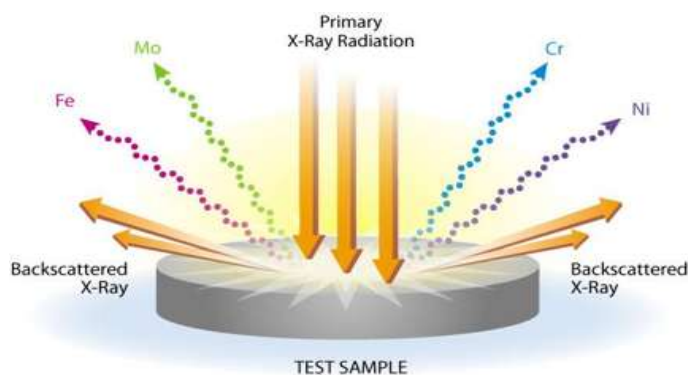


Figura 2- 2: Rayos X característicos o secundarios producidos por los rayos X primarios.

Los átomos en el material de la muestra, que podría ser cualquier sólido, en polvo o líquido, son excitados por los rayos X emitidos por un tubo de rayos X o un radioisótopo. Para aumentar la sensibilidad a la radiación de excitación primaria, esta puede ser polarizada mediante el uso de objetivos específicos entre el tubo de rayos X y la muestra. Todos los elementos dan señales específicas de fluorescencia de rayos X emitidas por los átomos de después de la ionización fotoeléctrica y se miden simultáneamente en un detector de semiconductor fijo o contador proporcional de gas sellado [10, 22 y 23].

La intensidad de la radiación de cada señal de elemento, que es proporcional a la concentración del elemento en la muestra, se vuelve a calcular internamente a partir de un conjunto de curvas de calibración almacenada y se puede mostrar directamente en unidades de concentración [24].



### 2.1.3 ¿POR QUÉ USAR LA POLARIZACIÓN?

Los rayos x polarizados son definidos como electromagnéticos (figura 2-3) vibraciones oscilan repetidamente en una sola dirección perpendicular a la dirección de propagación. O vector eléctrico orientado de una manera predecible con respecto a la dirección de propagación. En rayos x no polarizados, el vector está orientado de manera aleatoria, impredecible. Incluso en cortos intervalos de tiempo parece ser orientado en todas las direcciones con la misma probabilidad. La mayoría de las fuentes de rayos X parecen ser parcialmente polarizadas de modo que alguna fracción de los rayos x es polarizado y el resto no polarizada [25 y 19].

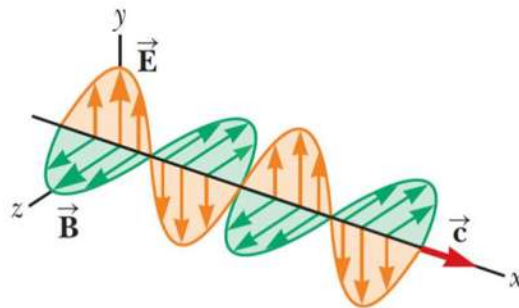


Figura 2- 3: Diagrama esquemático de una onda electromagnética que se propaga a una velocidad  $C$  en la dirección  $x$ . El campo eléctrico  $E$  vibra en el plano  $xy$ , y el campo magnético  $B$  vibra en el plano  $xz$ .

En los clásicos EDXRF, se utiliza la excitación directa. Estas técnicas sufren de un fondo de alta espectral que es un resultado de la excitación de dispersión de rayos x (figura 2-4). En EDXRF mal pico a fondo las relaciones son el resultado. Sin embargo, EDXRF fue promueven su desarrollado con el uso de polarización de rayos x. En detalles, la razón principal para el uso de la polarización de rayos x es mejorar la sensibilidad analítica (figura 2-4). Esto conduce a una mejor relación pico fondo y por lo tanto una mejor sensibilidad (manual del usuario SPECTRO XEPOS III).

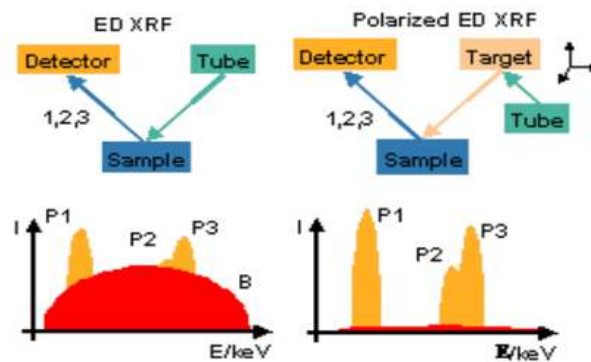


Figura 2- 4: EDXRF diferente con a) la excitación directa y b) EDXRF con excitación polarizada (PEDXRF).

### 2.1.4 GEOMETRÍA DE EXCITACIÓN POLARIZADA

Una forma más fundamental de minimizar los antecedentes dispersos es utilizar una fuente de excitación polarizada. El principio detrás de esta disposición (figura 2-5) es que si una muestra es excitada por un haz polarizado de los rayos X, existe una baja probabilidad de que esta radiación se disperse en un ángulo de  $90^\circ$  (ortogonal) con respecto al plano de polarización. Si, por lo tanto, el espectro de fluorescencia se detecta en  $90^\circ$  con respecto al plano de polarización del haz de excitación, la intensidad de la radiación de fondo procedente de la dispersión se reduce significativamente. Como consecuencia, las capacidades de límite de detección serán correspondientemente mejoradas. La radiación dispersa sólo se reduce, no se elimina [26].

Para polarizar rayos x es necesaria cierta geometría: tubo, blanco, muestra y detector deben estar dispuestos en una geometría cartesiana [19 y 27]. La polarización se realiza mediante el cambio de la dirección de los rayos X por  $90^\circ$ . Sin embargo, no es importante que el proceso físico esté implicado en la polarización de rayos x. Los rayos x que salen del tubo se reflejan o dispersan por el objetivo con un ángulo de  $90^\circ$  a la muestra, lo que significa que los rayos x no polarizados desde el tubo están polarizados en el objetivo. A continuación, el plano de polarización es el mismo que para el objetivo, la muestra, y el detector. Una vez que estos rayos x polarizados golpearon la muestra, que sólo puede ser dispersada ortogonalmente al plano y porque el detector se coloca en el interior del avión, sólo puede detectar la radiación de fluorescencia procedente de los elementos en la muestra (manual del usuario SPECTRO XEPOS III).

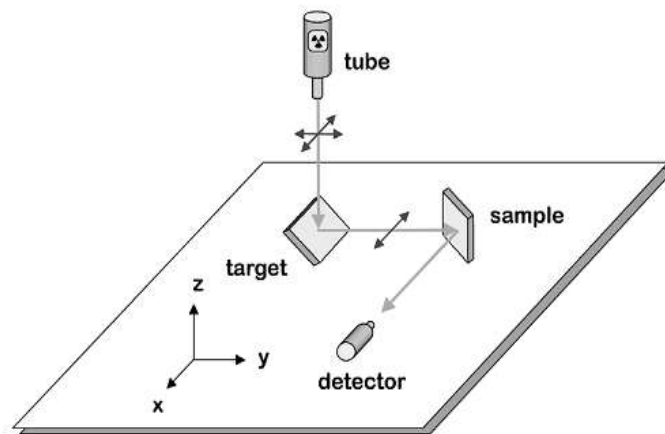


Figura 2- 5: Geometría de excitación polarizada para PEDXRF.

### 2.1.5 SISTEMA MULTI-OBJETIVOS

Objetivos polarizados ofrecen otras ventajas analíticas, como he mencionado antes. Mientras que algunos materiales de los objetivos simplemente dispersan la radiación de tubo de rayos X sobre la muestra, otros materiales producen intensa fluorescencia casi

monocromática de rayos X, que irradian la muestra. Mediante el uso de objetivos de diferentes materiales, es posible optimizar la fuente de excitación específicamente para analizar los elementos de interés. Los objetivos secundarios se dividen en tres tipos: 1) Objetivo de fluorescencia, 2) Objetivo Barkla; 3) Objetivo de dispersión de Bragg [19, 14 y 11].

### 2.1.5.1 OBJETIVO DE LA FLUORESCENCIA

En la práctica se necesitaría gasto experimental y sería muy costoso para utilizarse en cada elemento de un tubo óptimo de rayos X, por lo que a menudo se usan blancos fluorescentes. Los principios básicos cuando se trabaja con objetivos secundarios, son generar radiación casi monocromática y utilizarla para la excitación [Manual de usuario SPECTRO XEPOS III, 17 y 12].

Polarizado parcial se puede lograr usando geometría secundaria de excitación del objetivo. La salida de rayos x de un tubo de rayos X se utiliza para excitar un objetivo secundario, normalmente un metal, es decir, Co, Zn, Ge, Zr, Pd y Sm, que tiene como característica la energía adecuada para excitar la gama de elementos de interés. La disposición óptica de tubo de rayos X, el objetivo secundario de la muestra y el detector en la misma geometría ortogonal (figura 2-6). La muestra se excita a continuación, por las características de radiación de objetivo secundario y la radiación dispersada por el tubo de objetivo secundario, que es polarizada, conduce a cierta supresión de los antecedentes dispersos en los espectros detectados [26, 11 e instrucciones de uso SPECTRO XEPOS III].

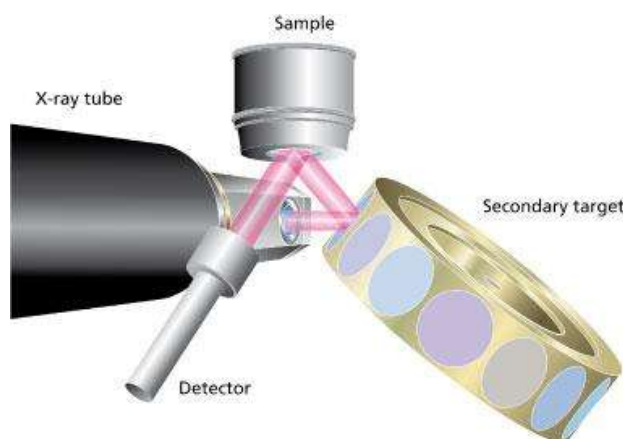


Figura 2- 6: La geometría básica de la excitación objetivo secundario.

El principio de la excitación del objetivo secundario fue desarrollado para evitar la continua frenorradiación intensa (figura 2-7) desde el tubo de rayos X mediante el uso de un objetivo entre el tubo y la muestra [18]. La relación de la intensidad de las líneas características a la serie continua en la excitación del objetivo secundario es mucho más alta que en la excitación directa del tubo continuo porque la parte del espectro de

excitación del objetivo secundario se genera sólo por dispersión. Uno puede excitar diferentes elementos de manera eficiente mediante la selección de un objetivo secundario que tiene líneas características justo por encima de los bordes de absorción de los elementos de interés en la muestra [19]. Por lo tanto, la excitación del objetivo secundario tiene algunas ventajas evidentes sobre la excitación en tubo directo: se mejora su flexibilidad para conseguir una excitación monocromática optimizada y ofrece una mejor selectividad y una mejor sensibilidad. En detalle, un objetivo secundario puede producir rayos X monocromáticos y polarizados o no polarizados dependiendo de la cantidad y los elementos de interés [12 y 18]. Los rayos x polarizados mejoran el límite de detección para los elementos de luz, por otro lado, son menos necesarios para los elementos pesados [17].

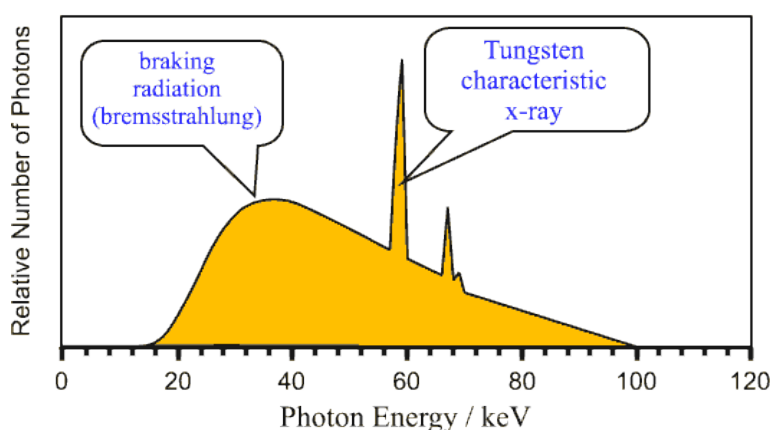


Figura 2- 7: De rayos X a partir de un objetivo de tungsteno a 100 kV, la comparación entre rayos x continuos y característicos.

## 2.1.5.2 OBJETIVO BARKLA

### 2.1.5.2.1 MÉTODO DE POLARIZACIÓN EN EL OBJETIVO BARKLA

La mejor manera de entender la radiación de polarización de dispersión de Barkla es a través de un análisis clásico sencillo de dispersión de Compton. Considere el fotón incidente a ser una onda electromagnética de que la dirección de los cambios del electrón vector son al azar en el tiempo, es decir, la radiación no-polarizada. Basada en las propiedades de la radiación electromagnética, la dirección del vector eléctrico se ve limitada a estar dentro del plano perpendicular a la dirección de movimiento de las olas, o el plano perpendicular a la página sobre la base de la figura 2-8. Por lo tanto, en cualquier momento dado el vector eléctrico se puede descomponer en dos componentes, uno en el plano horizontal y uno en el plano vertical,  $E_H$  y  $E_V$  [28].

Cuando un vector eléctrico oscilante en el plano horizontal se aproxima a un electrón, el electrón se convierte esencialmente en un dipolo, que oscila en el plano

horizontal paralelo a la  $E_H$ . El dipolo creado a través de la interacción de los electrones y el vector eléctrico resultan en una emisión de radiación. La radiación emitida desde un dipolo tiende a tener un vector eléctrico orientado paralelo al momento dipolar, y por lo tanto, la radiación es emitida en un plano perpendicular a esta dirección. Esto se demuestra en la figura 2-8, los electrones que interactúan con  $E_H$  establecen un dipolo en la dirección horizontal, que a su vez resulta en la radiación emitida en el plano vertical. Del mismo modo, los electrones que interactúan con  $E_V$  establecen un dipolo en la dirección vertical, lo que se traduce en la radiación emitida en el plano horizontal [28, 25 y 29].

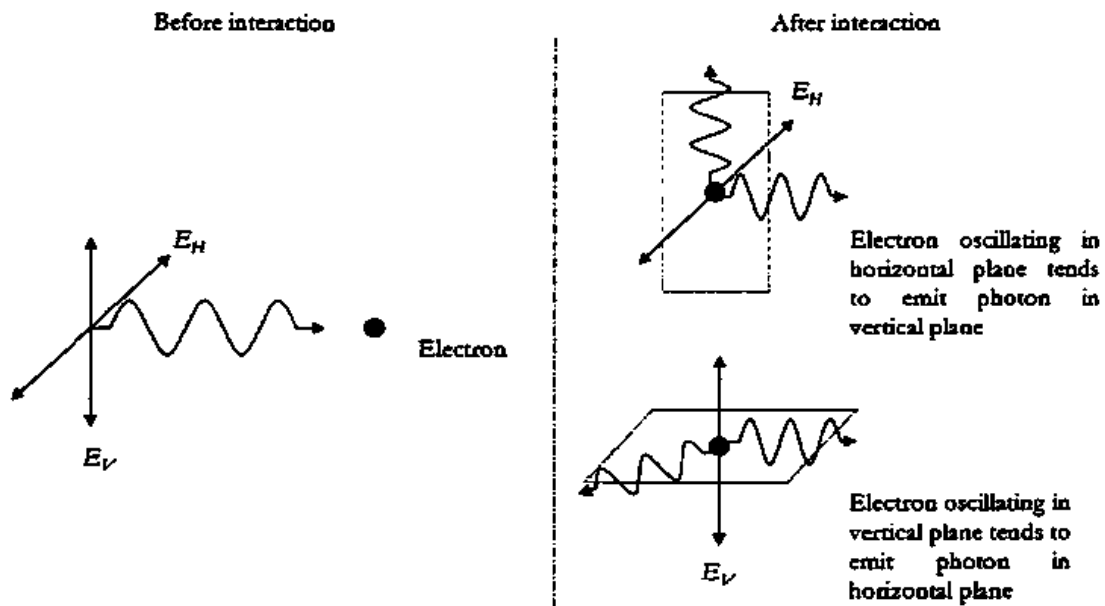


Figura 2- 8: Una representación esquemática del principio detrás de la polarización a través de la dispersión Barkla.

La clave es que, clásicamente, un dipolo no se puede irradiar a lo largo de la dirección de su mismo dipolo. Por lo tanto, cualquiera de los fotones observados en  $\theta = 90^\circ$  en el plano horizontal, es decir, a lo largo de la dirección de  $E_H$ , deben haber sido un resultado de las interacciones entre el electrón y vectores eléctricos paralelos a  $E_V$  y por lo tanto serán polarizados paralelamente a  $E_V$ . Del mismo modo, cualquiera de los fotones observados a  $90^\circ$  ángulos de dispersión en el plano vertical, es decir, los fotones observados en la dirección de  $E_V$ , deben haber sido debido a la dispersión de los fotones polarizados  $E_H$ , y por lo tanto serán polarizados paralelamente a  $E_H$ . Esta es una descripción sencilla, clásica de la dispersión de la radiación electromagnética por los electrones y por lo tanto es necesariamente sólo una cuenta aproximada de estas interacciones. Sin embargo, esta descripción proporciona una imagen adecuada del proceso de dispersión para permitir una visualización del método de polarización a través de la dispersión Barkla [28, 25 y 29].

El ángulo de dispersión de la radiación primaria no polarizada, es de vital importancia. Si el propósito de esta dispersión es generar un haz polarizado, entonces, al extraer el flujo disperso a lo largo de la dirección de  $E_H$  o  $E_V$  sirve a este propósito. Por lo tanto, se producirá dispersión en ángulos distintos de  $90^\circ$ , lo que resulta en los componentes extraídos de la viga con vectores eléctricos en ángulo al vector asociados con la dispersión a  $90^\circ$ , causando una disminución en el grado de polarización de la viga secundaria. Por otra parte, se requiere un polarizador de espesor razonable para generar un haz secundario intenso, lo que resulta en que una porción del haz primero se somete a múltiples eventos de dispersión. Esto, en general, también se suma a la despolarización del haz secundario. Por lo tanto, el ángulo sólido y el espesor óptimo del polarizador deben ser seleccionados como un compromiso entre la polarización y la intensidad del haz [28].

#### **2.1.5.2.2 EL PRINCIPIO DEL OBJETIVO BARKLA**

Los objetivos Barkla utilizan un tubo de radiación de rayos X dispersos para excitar la muestra. Estos objetivos también son fluorescentes pero la energía o la intensidad de estas líneas es demasiado baja para excitar los elementos de la muestra. Los objetivos Barkla están hechos de elementos ligeros como  $Al_2O_3$  (óxido de aluminio) y  $B_4C$  (Carbonato de Boro), ya que éstos dan la más alta radiación dispersa. En otras palabras, el objetivo Barkla dispersa toda la serie continua en lugar de confiar en la producción de energías de línea características. Sin embargo, el objetivo Barkla permite obtener rayos-x polarizados no monocromáticos o policromáticos intensos [28, 29 y manual del usuario SPECTRO XEPOS III]. Los objetivos Barkla se pueden utilizar para los análisis de una gran gama de elementos. Generalmente con los objetivos Barkla se analizan los elementos más pesados [19].

El análisis de dispersión de energía de fluorescencia de rayos X es ideal para la medición de una amplia gama de elementos simultáneamente, porque todas las energías de fotones se han agrupado por separado. Cuando el objetivo analítico es explotar esta capacidad de medir muchos elementos con buena sensibilidad y bajos límites de detección, se prefiere una fuente policromática polarizada [11].

Los materiales con un número atómico medio muy pequeño son especialmente adecuados para esto. Ellos tienen un coeficiente de atenuación de masa relativamente pequeño en los rangos de energía de interés, de modo que el espesor de la dispersión de destino se debe aumentar con el fin de obtener una intensidad suficientemente alta dispersión [11].

### 2.1.5.3 OBJETIVO DE BRAGG DISPERSO

#### 2.1.5.3.1 LEY DE BRAGG

Un cristal puede ser visto como una pila de capas delgadas las cuales tienen el mismo grosor [19], como se muestra en la figura 4-9. En otras palabras, los cristales consisten en un arreglo periódico de los átomos (moléculas) que forman la red cristalina [30]. Sin embargo, todos los átomos en una celda unitaria serán bañados en el haz de rayos X y, de hecho, todos serán dispersándolos en todas las direcciones. No es necesario que haya ningún átomo en los planos de difracción para considerar que sucederá lo dicho en ellos, pero hace que nuestra imagen sea un poco más fácil de entender [31]. Si un haz paralelo de rayos-x cae en el cristal, la primera capa refleja una fracción de la radiografía. La radiación restante penetra en el cristal y se refleja en las capas subsiguientes. Si la diferencia en la longitud de la trayectoria entre los reflejos de las capas es un múltiplo de la mitad de la longitud de onda de la radiación, los dos haces reflejados se desvanecen. Si la diferencia es exactamente un entero multiplicado por la longitud de onda, los dos haces reflejados se refuerzan. La diferencia en la longitud del camino es un entero multiplicado por la longitud de onda; la relación siguiente es la llamada Ley de Bragg [19]:

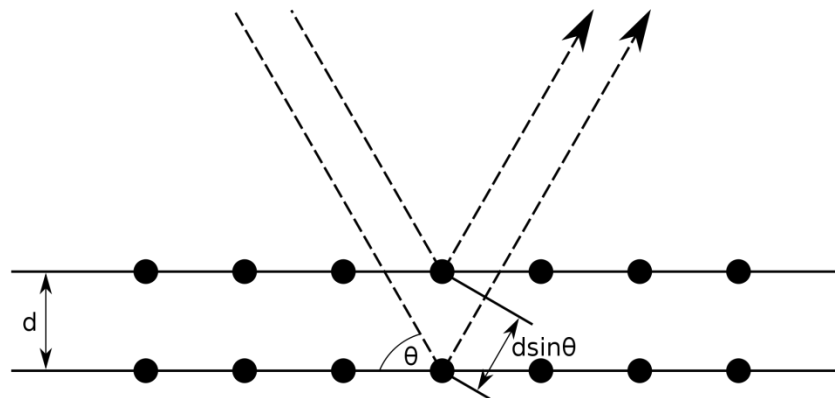


Figura 2- 9: Demostración de la ley de Bragg.

En un ángulo  $\theta$ , toda la radiación reflejada con una longitud de onda  $\lambda$  y que obedece a la ley de Bragg está en fase y se suma. Todas las demás longitudes de onda en el mismo ángulo se desvanecerán [19].

Cuando los rayos X paralelos golpean un plano reticular, cada partícula dentro de ella actúa como un centro de dispersión y emite una onda secundaria. Todas las ondas secundarias se combinan para formar una onda reflejada. Lo mismo ocurre en los planos reticulares paralelos donde muy poco de la onda de rayos X es absorbida dentro de la distancia reticular  $d$  [33].

La difracción de haces de rayos X se produce cuando los rayos X interactúan con la nube de electrones alrededor de los átomos del sólido cristalino. Debido a la estructura cristalina periódica de un sólido, es posible describir como una serie de planos con una distancia entre planicies iguales. Cuando un haz de rayos X incide sobre la superficie del cristal en un ángulo  $\theta$ , algunos de los rayos X se difractan en el mismo ángulo lejos del sólido. Lo que queda de los rayos x se desplazará dentro del cristal y parte de esos rayos-x van a interactuar con el segundo plano de los átomos. Una vez más algunos de los rayos X se difractan en un ángulo  $\theta$ , y el resto va a viajar más profundamente en el macizo. Este proceso se repetirá para los muchos planos en el cristal. Los haces de rayos X viajan a diferentes longitudes de camino antes de llegar a los diversos planos del cristal, así que después de difracción, las haces se interactúan constructivamente sólo si la diferencia de longitud de trayectoria es igual a un número entero de longitudes de onda [34].

Un detector colocado en un ángulo  $\theta$  por lo tanto, se puede medir la intensidad de la longitud de onda correspondiente. Longitudes de onda reflejadas que obedecen a la ley de Bragg para  $n = 1$  se llaman primeras reflexiones de orden, y para  $n = 2$  reflexiones de segundo orden, etc. [19].

En cualquier ángulo específico, sólo la radiación con una longitud de onda que obedece la ley de Bragg se refleja. La radiación con distintas longitudes de onda se reflejará en ángulos ligeramente diferentes, pero todavía alcanzan el detector y van a interferir con la energía que se desea medir. Un colimador, que es un conjunto de placas paralelas, se utiliza para obtener un haz de rayos X paralelos que caen exactamente en el ángulo requerido en el cristal. El colimador primario se coloca entre la muestra y el cristal, y un colimador secundario puede ser colocado entre el cristal y el detector [19].

#### **2.1.5.3.2 PRINCIPIO DEL OBJETIVO DE BRAGG**

Los objetivos de Bragg son cristales que reflejan una energía específica en una cierta dirección. Por montar el cristal entre el tubo y la muestra es posible para seleccionar una sola línea del tubo para irradiar la muestra, con ninguna otra radiación difractada hacia la muestra. Esto reducirá el fondo y mejorará el límite de detección. Si el espaciado de los planos en el cristal es tal que la línea de tubo es difractada en un ángulo de  $90^\circ$ , puede ser utilizado en la óptica 3D como un polarizador perfecto. Cristal de Grafito Pirolítico Altamente Orientada a (HOPG) puede producir intensos rayos x polarizados monocromáticos con longitud de onda específica para los elementos de interés [19]. Generalmente, Bragg se dirige a los análisis los elementos más ligeros [29 y manual del usuario de SPECTRO XEPOS III].



### 2.1.6 MATRIZ DE EFECTOS

Idealmente, la intensidad de una línea analítica es linealmente proporcional a la concentración del analito y, a través de un rango limitado, este es el caso. Sin embargo, la intensidad de una línea analítica no sólo depende de la concentración del elemento originario. También depende de la presencia y concentraciones de los otros elementos. Estos otros elementos pueden conducir a la atenuación o realce [19].

Figura 4-10 (izquierda) ilustra el efecto de absorción. Para llegar a los átomos dentro de una muestra, los rayos X de la fuente deben pasar primero los átomos que están por encima de ellos, y la fluorescencia de los átomos también deben pasar igualmente a través de estos átomos. Estos átomos de supra yacentes absorberán una parte de la radiación entrante y una parte de la radiación fluorescente. La absorción depende de qué elementos están presentes y sus concentraciones. En general, los elementos pesados absorben más que los elementos ligeros [19].

Figura 4-10 (a la derecha) muestra el efecto de realce. Un elemento es excitado por la radiación entrante y en algunos casos también por la fluorescencia de otros elementos. Si esto ocurre o no y qué tan grande es el efecto depende de los elementos y sus concentraciones [19].

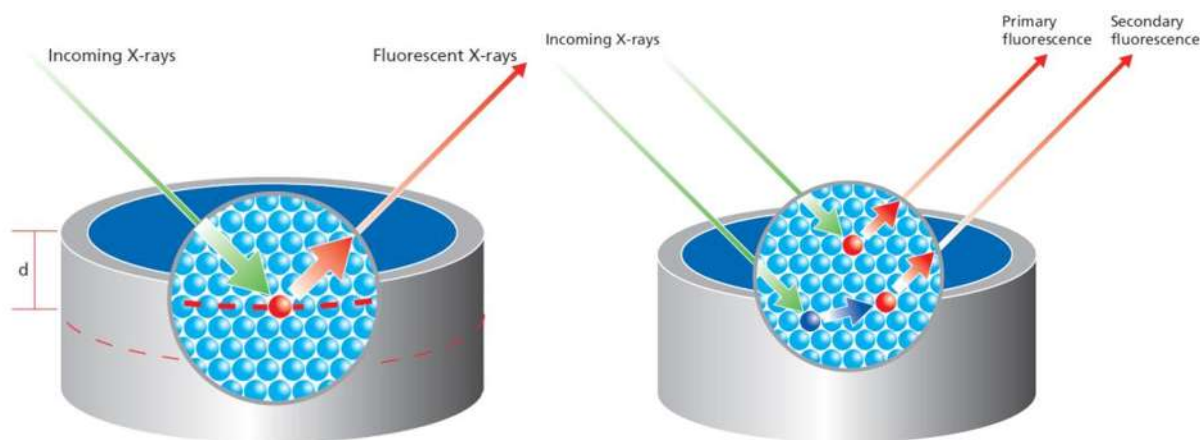


Figura 2- 10: Absorción y mejora.

La absorción primaria se produce porque todos los átomos de la matriz de la muestra absorberán los fotones de la fuente primaria. Puesto que existe una competencia por estos fotones primarios por los átomos que forman la muestra, la distribución de intensidad / longitud de onda de estos fotones disponibles para la excitación de un elemento de analito dado puede ser modificado por otros elementos de matriz. Absorción secundaria se refiere al efecto de la absorción de la radiación característica del analito por

la matriz de muestra. Como radiación característica pasa hacia fuera de la muestra en la que se haya generado, que será absorbida por todos los elementos de la matriz, por cantidades relativas a los coeficientes de absorción de masa de estos elementos. El coeficiente de absorción de masa es un parámetro que define la magnitud de la absorción de un cierto elemento para una longitud de onda específica de rayos x. La absorción total de una muestra depende de la absorción tanto primaria como secundaria [31].

Los efectos de mejora se producen cuando un elemento de matriz no analito emite una línea característica que tiene energía sólo en el exceso del borde de absorción del elemento de analito. Esto significa que el elemento no-analito en cuestión es capaz de excitar el analito, dando fotones característicos sobre y por encima de los producidos por el proceso continuo primario. Esto da una mayor, o mejorada señal del analito [31].

### 2.1.7 SISTEMA DE DETECCIÓN

La radiación se detecta utilizando sistemas especiales que miden la cantidad o el número de eventos de excitaciones o ionizaciones que ocurren dentro del volumen sensible del detector. La radiación ionizante rara vez se detecta directamente. En su lugar, los detectores suelen medir los productos secundarios derivados de las interacciones de la radiación con el material del detector. La colección de la ionización creada por la radiación en un volumen detector puede ser utilizada simplemente para detectar el paso de una radiación. La tasa de generación de impulsos inducidos por la radiación se puede usar para medir la velocidad a la que la radiación atraviesa el detector. Tales detectores se denominan contadores de radiación [35].

Los diferentes tipos de detectores que se utilizan en XRF. EDXRF utilizan principalmente detectores de estado sólido en WDXRF utilizan llenador de gas y detectores de centelleo. El detector EDXRF es un detector de gama amplia y analiza todos los elementos desde Na hasta U. Detectores de llenado de gas miden elementos desde Be hasta Cu, rayos x de longitudes de onda largas. Todos estos detectores producen un pulso eléctrico cuando un fotón de rayos X entra en el detector, y la altura de este pulso es proporcional a la energía del fotón entrante. Los pulsos se amplifican y se cuentan a continuación por un analizador multi-canal [19].

En las bajas energías de rayos X, los procesos se limitan a la dispersión de Compton, dispersión de Thomson / Rayleigh y las interacciones más importantes para EDXRF es el efecto fotoeléctrico [17, 18 y 13].

Los tipos de detectores utilizados con más frecuencia son: 1) detector de llenado de gas; 2) detector de centelleo; 3) detector de estado sólido (o semiconductor).

### 2.1.7.1 DETECTOR DE LLENADO DE GAS

Los detectores de gas de relleno operan mediante la utilización de la ionización producida por la radiación a medida que pasa a través de un gas, la ionización de las moléculas de gas. Típicamente, tal un contador consta de dos electrodos a los que se aplica un cierto potencial eléctrico. El espacio entre los electrodos se llena con un gas, normalmente de gas inerte, es decir, Ar, Ne, Xe y él. La radiación ionizante, que pasa por el espacio entre los electrodos, disipa parte o la totalidad de su energía mediante la generación de pares de iones positivos y electrones (figura 2-11). Tanto los electrones y los iones son portadores de carga que se mueve bajo la influencia del campo eléctrico. Los electrones negativos se mueven hacia el ánodo y los iones positivos hacia el cátodo ese movimiento induce una corriente en los electrodos, que pueden ser medidos. O, por medio de electrónica adecuada, la carga producida por la radiación puede ser transformada en un pulso, donde las partículas se cuentan individualmente. El número de electrones es proporcional a la energía de la radiación entrante [10, 36, 37, 22 y 19].

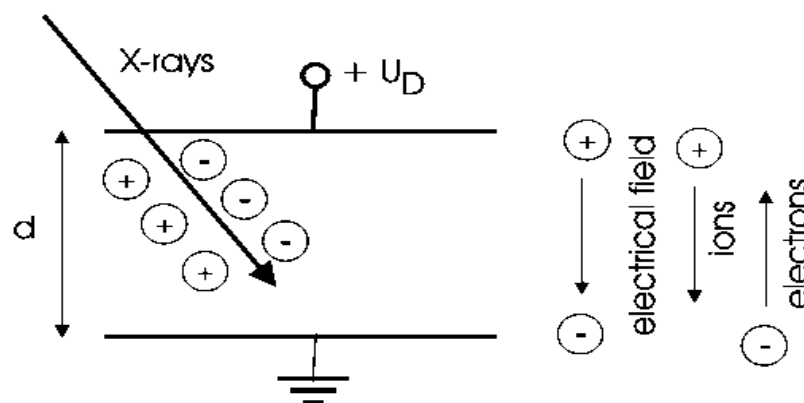


Figura 2- 11: Diagrama esquemático de un detector de llenado de gas.

### 2.1.7.2 DETECTOR DE CENTELLEO

Centelladores son materiales sólidos, líquidos y gases que producen chispas y centelleos de luz cuando la radiación ionizante pasa a través de ellos. La cantidad de luz producida en el centellador es muy pequeña. Se debe ser amplificada antes de que pueda ser registrado como un pulso o de cualquier otra manera. La amplificación o multiplicación de la luz de centelleo se consigue con un dispositivo conocido como el tubo o tubo fotográfico fotomultiplicador (PM) [23].

El funcionamiento de un contador de centelleo se divide en dos pasos (figura 2-12): el primer paso, es la absorción de energía de la radiación incidente por el centellador, los electrones se elevan a estados excitados y después de posterior de des-excitación el centellador emite un fotón de la luz visible gama; el segundo paso, es el fotón, emitido por

el centellador, que interactúa con el fotocátodo de un tubo fotomultiplicador, liberando electrones. Los electrones emitidos por el fotocátodo son guiados, con la ayuda de un campo eléctrico, hacia el primer ánodo, que está recubierto con una sustancia que emite electrones secundarios, si los electrones inciden sobre ella. Los electrones secundarios se mueven del primer dínodo hacia el segundo, a partir de ahí hacia el tercero, y así sucesivamente [23 y 38].

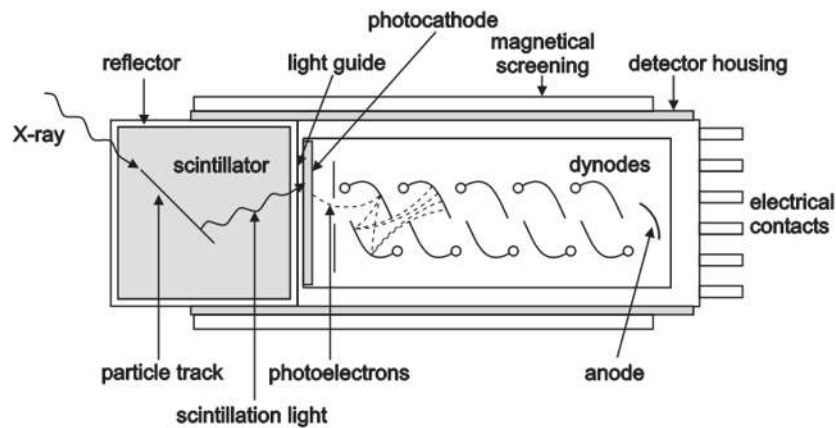


Figura 2- 12: Acumulación de un detector de centelleo.

### 2.1.7.3 SEMICONDUCTORES O DETECTOR DE ESTADO SÓLIDO

En comparación con otros materiales, los semiconductores tienen propiedades únicas que los hacen muy adecuados para la detección de la radiación ionizante. Materiales detectores semiconductores que se utilizan más comúnmente son el germanio y el silicio, pero también se utilizan otros materiales compuestos, tales como GaAs y CdTe CdZnT. Germanio (Ge) es adecuado para mediciones de muy alta energía de rayos X, debido al elevado valor Z, mientras que los detectores de silicio (Si) tienen una eficiencia razonable de pocas decenas de keV para energías de rayos X [39].

La energía media de semiconductores para la creación de un par de electrones huecos es de 3.65eV (alta Ge puro) es en orden de magnitud menor que la energía de ionización de los gases 30eV. Por lo tanto, la energía de los rayos x se pueden medir con mucha mayor precisión y baja a menores energías de lo que sería posible con los detectores de gas [39 y 38].

El semiconductor tiene una resolución de alta energía que los de otros detectores, tales como detectores de ionización de gas o detectores de centelleo y comparativamente con buena eficiencia de registro [38].

La alta densidad para el semiconductor conduce a una corta longitud de absorción de rayos x de baja y media energía y a una gran pérdida de energía por longitud de recorrido de la partícula ionizante. Por lo tanto, es posible construir detectores finos que todavía producen señales suficientemente grandes para ser medidos [39 y 38].

En general, los instrumentos de análisis de rayos x usan de detectores semiconductores de Si, por ejemplo, en PEDXRF; detectores Ge se utilizan generalmente para el conteo de rayos  $\gamma$ , por ejemplo, en análisis por activación neutrónica instrumental (INAA) [38]. El Si puro es un semiconductor intrínseco (i) (figura 2-13), suministra un material excelente para un detector, sin embargo, el Si disponible más puro incluso contiene algunas impurezas residuales, tales como boro (B), haciendo que se convierta en un conductor mediante la creación de agujeros en la banda de valencia del Si. Estos orificios se convierten en portadores de carga, lo que permite que la corriente fluya, llamado un semiconductor de tipo p, en el semiconductor de tipo p la concentración de huecos en la banda de valencia más altos que los electrones. Por otro lado, semiconductor tipo n tiene concentración de electrones en la banda de conductor más que agujeros, que mediante la adición de Li o P (añadir electrones) a la banda de conducción de cristal de Si, inunda los efectos de las impurezas B [40].

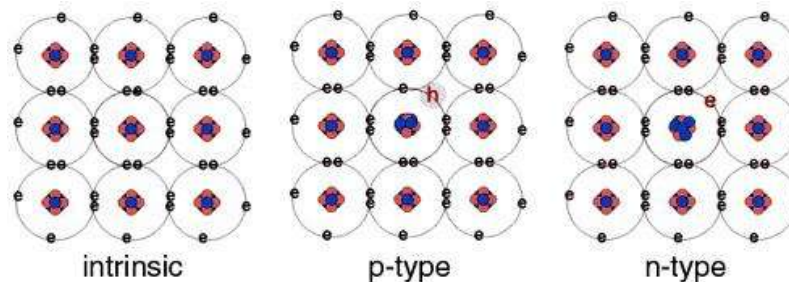


Figura 2- 13: Tipos de los semiconductores; diagrama esquemático que muestra únicamente la capa de valencia de electrones para ilustrar intrínseca, tipo p y semiconductores de tipo n.

Diferentes tipos de semiconductores se pueden combinar para producir dispositivos electrónicos útiles. Por ejemplo, una unión p-n, también llamado un diodo, sólo permitirá que la corriente fluya en una dirección. La colocación de un voltaje a través de un diodo hace que los electrones en la zona de tipo n para moverse a través del contacto y hacia la terminal positiva y los agujeros en la zona de tipo p para moverse en el sentido contrario a través del contacto hacia la terminal negativa. Cuando los electrones y los huecos se alcanzan unos a los otros se recombinan causando un flujo de corriente a través del diodo (figura 2-14). Aunque los electrones y agujeros fluyen en direcciones opuestas, la corriente fluye sólo de una manera, porque los portadores de carga tienen polaridades opuestas [40].

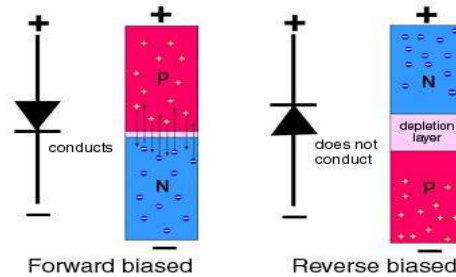


Figura 2- 14: P-N unión o diodo.

Una situación de polarización se aplica cuando el silicio de tipo p está conectado a la terminal positiva de una batería y el silicio de tipo n está conectado a la terminal negativa; una corriente fluiría. Con una polarización inversa, silicio de tipo p está conectado a la terminal negativa de una batería, no corriente fluiría.

El detector de cristales de Si se dopa con Li, un electrón dona en un proceso llamado deriva. La deriva de Li hace de Si un mejor semiconductor por inundar los efectos de las impurezas. Li flotó cristales de Si (Li) y de Ge (Li). Un cristal detector consta de 2-5 mm de espesor de cristal de Si, con contactos dorados de sus extremos. Una polarización se aplica a través del cristal que causa un flujo de corriente. El cristal de Si consiste en una deriva de región intrínseca de Li frente a la muestra (tipo p) y una región libre de Li adyacente (intrínseca). El contacto frontal de Li y la región libre de Li flotan en una región intrínseca que forma una unión p-i-n. El cristal se mantiene a bajas temperaturas para evitar la difusión de la región intrínseca de Li a la región libre de Li [40].

La polarización inversa de la unión n-p constituye un detector de radiación atractivo. La región de agotamiento, que es el volumen activo, tiene una alta resistividad, y los iones producidos por la radiación no se pueden recoger con rapidez y eficacia. Puede servir como una medida de evaluación o para analizar pulsos. El número de pares de electrón-hueco producidos en un impulso es proporcional a la energía absorbida en el volumen activo, y la unión puede ser utilizada como un espectrómetro [10].

Cuando una placa de rayos x cuánticos (o  $\gamma$ -ray) golpean el cristal detector semiconductor, es absorbido y produce una alta energía de fotoelectrones. Los fotoelectrones golpean una banda de electrones de valencia a la banda de conducción y se produce un par electrón-hueco (figura 2-15), formado por los procesos de ionización. Esta interacción consume algo de la energía de los fotoelectrones, y los fotoelectrones ligeramente menos energéticos continúan produciendo más pares electrones-agujeros hasta que su energía se disipa. En promedio para un cristal de Si, de 3.8 a 3.9 eV se disipan por par de electrón-hueco creado. Por lo tanto, los rayos X con una energía más de 1 keV produce muchos agujeros. La polarización colocada a través del cristal detector hace que los pares electrón-hueco migren y aumenta la conductividad del cristal. En la zona de barrera los electrones y los iones se separan rápidamente por el campo eléctrico y son

acelerados hacia los límites de los campos, los electrones se mueven hacia la región-n, los iones hacia la región-p. En el circuito exterior esto provoca una corriente de cortocircuito en el detector y una capacidad espurio que se puede medir el tiempo, la carga total llevada a cabo es directamente proporcional a la energía de la absorción de rayos X [10 y 40].

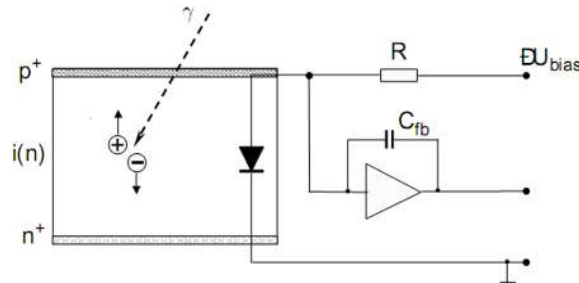


Figura 2- 15: Principio de la construcción de un detector de estado sólido pin junto con su lectura por preamplificador de carga sensible.

Las ventajas de los detectores de semiconductores son: 1) de alta densidad (densidad de electrones) y su número atómico (detectores más delgados); 2) muy sensible; 3) electrón-hueco de baja energía para producir; 4) altura de impulsos proporcional a la energía de la radiación; 5) alta movilidad de portador, a menos de 30 ns para recoger la señal completa. Por otra parte, las desventajas de los detectores de semiconductores son: 1) los detectores semiconductor son relativamente caros; 2) la mayoría de los detectores semiconductores, necesitan refrigeración; 3) los detectores semiconductores bajo la influencia de la radiación ionizante pueden ser dañados [10 y 38].

En la espectroscopia de energía dispersiva de rayos X, diferentes tipos de detectores de semiconductores están en uso. Los tipos de detectores más comunes son: 1) detectores de barrera de la capa, 2) detectores de pines, 3) detectores de germanio de alta pureza (HPGe), y 4) la posición de detectores sensibles [10].

| Comparación de los factores de conversión de energía para tipos de detectores | Tipo de Detector           | Energía eV |
|-------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|------------|
| Energía necesaria para crear un par ionE                                      | Detector Semiconductor     | 3-5        |
|                                                                               | Detector de llenado de gas | 25-35      |
| Energía incidental necesaria para producir un photon oscilatorio              | Detector Centellante       | 30         |

Tabla 2- 1: Comparación de los factores de conversión de energía para los tipos de detector [38].

## 2.2 ESPECTROSCOPIA DE EMISIÓN ATÓMICA DE PLASMA ACOPLADO INDUCTIVAMENTE

La Espectroscopia de Emisión Atómica de Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-AES), también conocida como Espectrometría de Emisión Óptica de Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-OES) es una técnica analítica utilizada para la detección de trazas de

metales en muestras ambientales [41]. La técnica es exacta y precisa cualitativamente y cuantitativamente en medidas que involucran sistemas químicos. ICP-AES es una de las técnicas más comunes para el análisis de elementos. Su alta especificidad, la capacidad multi-elemento y buenos límites de detección (desde mediados de ppb hasta mediados de ppm) resultan en el uso de la técnica en una gran variedad de aplicaciones [42]. Todos los tipos de muestras disueltas pueden ser analizados, variando a partir de soluciones que contienen altas concentraciones de sal a los ácidos diluidos [41].

ICP-AES es una técnica analítica utilizada para determinar la composición elemental de materiales. ICP-AES es sólo uno de muchos tipos diferentes de métodos de espectroscopia atómica. Los modernos sistemas ICP-AES en el mercado son capaces de analizar de 70 elementos diferentes.

Los análisis por ICP-AES requieren que la muestra sea en solución. Por lo tanto, las aguas intersticiales pueden ser analizadas sencillamente, pues requieren solamente dilución en la mayoría de los casos. Las rocas ígneas, rocas sedimentarias y sedimentos, sin embargo, deben ser disueltas. Esto se puede lograr ya sea por un ataque ácido combinado empleando HF, HNO<sub>3</sub>, y los ácidos HCl, o por una técnica de flujo de fusión LiBO<sub>2</sub> similar a la utilizada para la preparación de fluorescencia de rayos X [43].

### 2.2.1 PRINCIPIO ICP-AES

La determinación de la composición elemental de un material por ICP-AES es posible debido al hecho de que cuando una sustancia se coloca en la antorcha de plasma caliente, los átomos de la sustancia se excitarán y la energía luminosa será emitida. Esta es la idea fundamental detrás de la espectroscopia de emisión atómica. Espectroscopistas físicos utilizan la luz emitida, la luz absorbida, o la luz dispersada a fin de comprender la mecánica de un sistema químico. Espectroscopistas analíticos utilizan los mismos procesos físicos para determinar el contenido y la concentración de las especies atómicas y moleculares presentes en un sistema químico [44].

Introducción de átomos en plasma provocará que los átomos se alteren, y el resultado de las emisiones atómicas que se pueden observar, capturar y estudiar. En detalle, la relajación de los electrones excitados mientras regresan al estado fundamental es acompañada por la emisión de fotones de luz con una energía característica del elemento. Debido a que la muestra contiene una mezcla de elementos, un espectro de longitudes de onda de luz se emite simultáneamente. El espectrómetro utiliza una rejilla para dispersar la luz, la separación de las emisiones de elementos particulares y la dirección de cada uno a un detector de tubo fotomultiplicador dedicado. Mientras esta luz sea más intensa, cuanto más concentrado el elemento. Una computadora convierte la señal electrónica de los tubos fotomultiplicadores en concentraciones [44].



### 2.2.2 INSTRUMENTACIÓN ICP-AES

ICP-AES consiste en dos partes: el plasma acoplado inductivamente, ICP y la Espectroscopia de Emisión atómica (u óptica), AES o OES.

ICP es un plasma de argón mantenido por la interacción de una frecuencia de radio, un campo de RF y el gas de argón ionizado. El ICP alcanza temperaturas tan altas como 10.000 °K (7500 °K en el canal central), con la muestra que experimenta útiles temperaturas entre 5500 °K y 8000 °K. Estas temperaturas permiten la atomización completa de los elementos en una muestra, minimizando los efectos de interferencia químicos [45].

La muestra, que por lo general debe estar en una forma líquida, se bombea a 1 ml / min, por lo general con una bomba peristáltica en un nebulizador (figura 2-16), los movimientos y la presión de los rodillos sobre tubo de la bomba que alimenta constantemente la muestra del nebulizador, donde se convierte en un aerosol fino con gas argón de aproximadamente 1 L / min, lo que es muy similar a la del mecanismo de pulverización de una lata de desodorante [46]. Los beneficios de una bomba peristáltica es que asegura un flujo constante de líquido, independientemente de las diferencias en la viscosidad entre las muestras, estándares y objetivos. Las finas gotitas de aerosol, que representan sólo el 1-2% de la muestra, se separan de gotitas más grandes por medio de una cámara de pulverización; función de la cámara de pulverización es principalmente para permitir que sólo las pequeñas gotitas entren en el plasma. Su propósito secundario es suavizar impulsos que se producen durante el proceso de nebulización, debido principalmente a la bomba peristáltica [47 y la 48]. A continuación el aerosol fino emerge desde la salida del tubo de la cámara de pulverización y se transporta en la antorcha de plasma a través de un inyector de muestra [47].

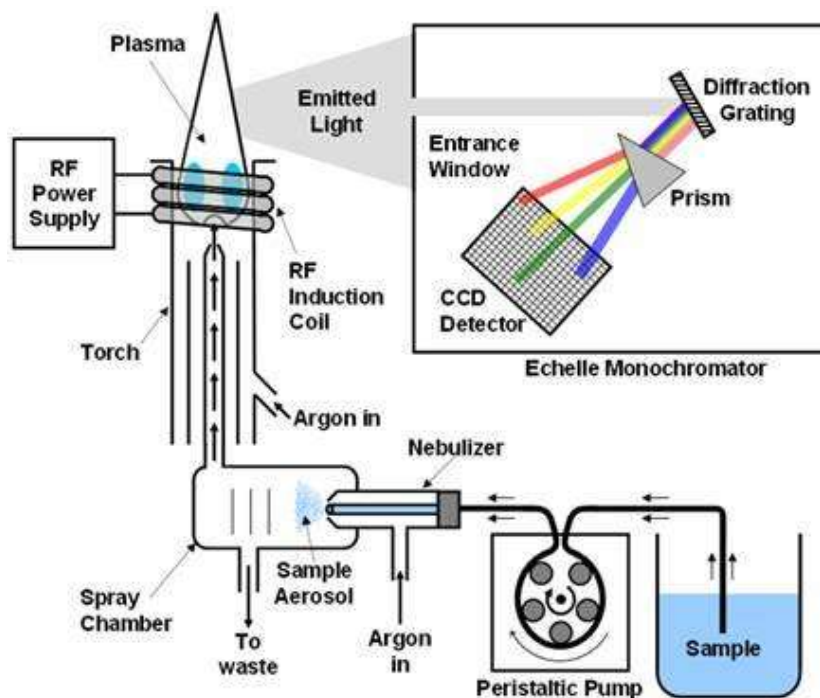


Figura 2- 16: Los principales componentes y el diseño de un instrumento ICP-AES típico.

Una bobina de cobre rodea la parte superior de la antorcha y está conectada a un generador de Radio Frecuencia (RF). A medida que se aplica potencia de RF a la bobina, una corriente alterna comienza a oscilar, generalmente a una frecuencia de 27 o bien 40 MHz dentro de la bobina (figura 2-17). Esta corriente oscilante genera un fuerte campo electromagnético en la parte superior de la antorcha. Como los flujos de gas argón a través de la antorcha, una chispa de alto voltaje se aplica al gas, que elimina algunos átomos de argón de sus electrones. Estos electrones son acelerados por el campo magnético y chocan con otros átomos de argón, quitándose sus electrones a su vez. Este proceso continúa en una reacción en cadena, lo que resulta en una descarga ICP que consiste de átomos de argón, iones de argón, y los electrones [47]. Esta descarga se mantiene continuamente dentro de la antorcha por afluencia de potencia de RF en la bobina de carga y proporciona la temperatura y la energía necesaria para ionizar la mayoría de los elementos en la tabla periódica [41]. La muestra se inyecta en forma de aerosol a través del centro de la rosquilla (figura 2-16). Esta característica de los confines del PCI de la muestra a una región estrecha y proporciona una fuente de emisión ópticamente delgada y una atmósfera químicamente inerte. Esto se traduce en una amplia gama dinámica y las interacciones químicas mínimas en un análisis [45].

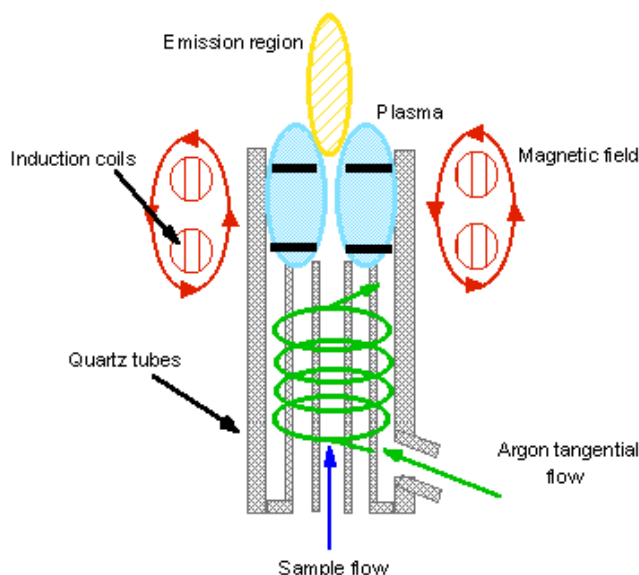


Figura 2- 17: Sección transversal esquemática de un ICP.

La espectroscopia de Emisión Atómica (u óptica) (AES o OES) es la medición de la luz emitida por los elementos de una muestra introducida en una fuente de ICP. Los átomos excitados y los iones emiten una radiación característica que se recoge mediante un dispositivo que ordena la radiación por longitud de onda. La radiación es detectada y convertida en señales electrónicas que se convierten en la concentración de la información para el analista. Además, las intensidades de emisiones medidas se compararon con las intensidades de los estándares de concentración conocida para obtener las concentraciones elementales en la muestra desconocida [49].

### 2.3 CRITERIOS GENERALES PARA LA SELECCIÓN DE UNA TÉCNICA

Hay dos enfoques principales para la selección de una técnica analítica. El primero de ellos consiste en determinar las tareas y objetivos de análisis, entonces para comprar los instrumentos más adecuados que permitan a los usuarios obtener los resultados deseados con la facilidad y con la calidad requerida. Esta es la idea y por lo tanto se debe seguir cuando se quiera que las condiciones presupuestarias lo permitan. El segundo enfoque consiste en ver lo que se dispone de instrumentos o qué equipo se puede comprar, entonces la capacidad analítica de laboratorio, tareas y metas se determinan en consecuencia [50].

En todos los casos, el saldo deberá ser establecido teniendo en cuenta las fuentes de financiación y las tareas analíticas necesarias. Sin embargo, los conocimientos básicos para la comparación de las técnicas de análisis sería muy útil para dar decisiones correctas con el fin de adquirir los instrumentos adecuados de análisis químico en el análisis de elementos traza [50].

### 2.3.1 CRITERIOS PARA LA SELECCIÓN DE UNA TÉCNICA DE ANÁLISIS

Estos criterios de rendimiento se denominan a veces como figura analítica de mérito; figura de mérito es una cantidad que se usa para caracterizar el rendimiento de un dispositivo, sistema o método, con respecto a sus alternativas [51]. Antes de comprar un instrumento nuevo, algunas estimaciones se puede hacer; cifras reales requieren un uso prolongado y la experiencia en un sistema analítico específico. Siempre es útil aceptar las sugerencias de varias fuentes de competencia [50].

### 2.3.2 CÓMO SELECCIONAR LA TÉCNICA ADECUADA

Directores de laboratorio deben decidir qué técnica es más adecuada para los problemas de análisis de su laboratorio. Es necesaria una comprensión clara del problema analítico en el laboratorio y las capacidades proporcionadas por las diferentes técnicas [52].

Los criterios importantes para la selección de una técnica analítica incluyen límites de detección, rango de trabajo analítico, el rendimiento de la muestra, el costo, interferencias, facilidad de uso, niveles de habilidad del operador y de la disponibilidad de una metodología probada [50, 52, 53 y 45].

Los límites de detección alcanzables para los elementos individuales son importantes en la determinación de la utilidad de una técnica analítica para un problema analítico dado. Sin capacidades límite de detecciones adecuadas, los procedimientos de concentración de analitos largos pueden ser requeridos antes del análisis. El rendimiento de la muestra es el número de muestras que se pueden analizar o elementos que se pueden determinar por unidad de tiempo [52].

El rango de trabajo analítico puede ser visto como el intervalo de concentración en el cual los resultados cuantitativos se pueden obtener sin tener que volver a calibrar el sistema. Selección de una técnica con un rango de trabajo analítico (y los límites de detección) sobre la base de las concentraciones esperadas del analito minimiza los tiempos de análisis al permitir que las muestras con diferentes concentraciones de analito sean analizadas juntas. Una amplia gama de trabajo analítico también puede reducir los requisitos de manipulación de muestras, lo que minimiza los errores potenciales [54].

XRF (PEDXRF y WDXRF), ICP-AES y ICP-MS son técnicas analíticas superiores para el análisis de elementos múltiples en un amplio rango de concentración para una gran variedad de muestras. Cada técnica tiene sus ventajas y desventajas, mostrado en la tabla 2-2. En efecto, en todas las empresas tienen muchos modelos para la misma técnica (es decir, (HR) ICP-MS), por supuesto, con diferentes usos y precios, con ventajas y desventajas, que hacen que la comparación sea difícil.

| Criterio                           | ICP-AES<br>(o ICP-OES) | ICP-MS          | XRF(PEDXRF y WDXRF)                                     |
|------------------------------------|------------------------|-----------------|---------------------------------------------------------|
| Límite de Detección                | sub ppb                | sub ppt         | sub ppm                                                 |
| Rango Dinámico                     | Alto ppm rango         | Medio ppm rango | % rango                                                 |
| Capacidad Analítica                | Multi-elementos        | Multi-elementos | Multi-elementos                                         |
| Método Analítico                   | Destructivo            | Destructivo     | Nodestructivo                                           |
| Fácil de utilizar                  | Sencillo               | difícil         | Sencillo                                                |
| Flujo de muestras<br>(por muestra) | 1-5 min                | 1-4 min         | 10 min                                                  |
| Análisis Semi-<br>Cuantitativo     | Sí, limitado           | Sí              | Sí                                                      |
| Análisis Isotópico                 | No                     | Sí              | No                                                      |
| Costo Operativo                    | Alto                   | Muy Alto        | Bajo                                                    |
| Costo (por muestra)                | Bajo                   | Medio           | Bajo                                                    |
| Costo Inicial                      | Alto                   | Muy Alto        | Mediano-Muy alto                                        |
| Elemento                           | Cerca de 70            | Cerca de 80     | Cerca de 70 WDXRF Puede<br>detectar más de 70 elementos |

Tabla 2- 2: Comparación entre XRF, ICP-AES y ICP-MS [50, 52, 49 y 46].

## 2.4 FITORREMEDIACIÓN

La fitorremediación es un término aplicado a un grupo de tecnologías que utilizan las plantas para reducir, eliminar, degradar, o inmovilizar las toxinas ambientales, inmovilizar los contaminantes del suelo y el agua, con el objetivo de restaurar sitios de la zona a una condición utilizable para aplicaciones privadas o públicas (figura 2-18). En efecto, se utiliza para eliminar o hacer inofensivos los contaminantes ambientales tales como metales pesados, elementos traza, compuestos orgánicos, y compuestos radioactivos en el suelo o el agua. Sin embargo, los esfuerzos se han centrado en el uso de las plantas para acelerar la degradación de contaminantes orgánicos, por lo general conjuntamente con la raíz rizosférica de microorganismos, o eliminar los metales pesados peligrosos de los suelos o del agua [55].

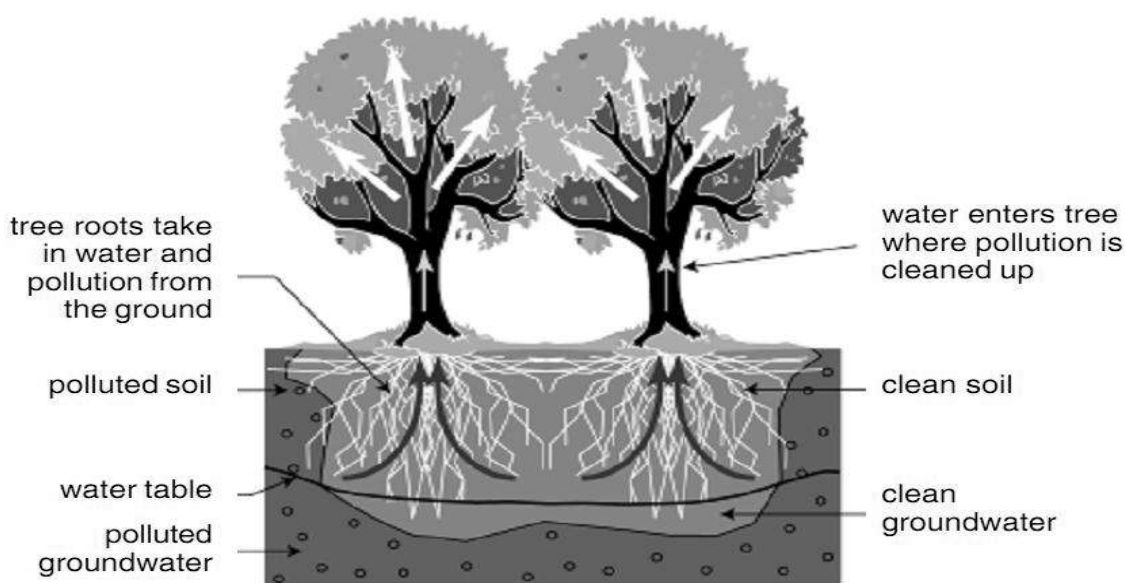


Figura 2- 18: Principio de Fitorremediación.

La fitorremediación de sitios contaminados es atractivo porque es relativamente barato y estéticamente agradable para el público en comparación con las estrategias de remediación alternativas que afectan excavación / extracción (Figura 2-19) o químicos en la estabilización / conversión in situ [55].



Figura 2- 19: La excavación de un sitio contaminado con metales, explosivos, compuestos volátiles y semi-volátiles; suelo antes (izq.) y después (der.) de la limpieza.

Las estrategias de rehabilitación más comunes utilizadas en el mundo para el tratamiento de suelos contaminados con metales tóxicos o productos químicos y orgánicos, se clasifican en tres estrategias utilizadas: 1) la inmovilización o retención de sustancias tóxicas dentro de un espacio cerrado, es decir, el suelo en el lugar de su liberación o suelo contaminado colocado en un vertedero; 2) eliminación de los contaminantes del suelo; 3) y la destrucción de los contaminantes orgánicos por medios químicos, físicos o biológicos.

Estas estrategias ya sea individualmente o en combinación unos con otros se han aplicado de forma rutinaria por la industria de remediación con éxito para tratar suelos contaminados [56]. Las plantas pueden proporcionar una alternativa a la excavación, por ejemplo, en la descontaminación de suelos con bajos niveles de sustancias orgánicas e inorgánicas. Proporcionan una herramienta ecológica para la descontaminación, pero hay obstáculos, como la forma de disponer de plantas contaminadas, sobre todo con la radiactividad. Problemas tales como la forma de incrementar la biomasa, por lo que la absorción total de los contaminantes en las especies más eficientes también ha de abordarse en un futuro próximo. Se sabe que ciertas familias y especies son más eficientes que otros en la absorción de contaminantes seleccionados [57].

El éxito del tratamiento de los suelos con residuos mezclados requiere una combinación de especies de plantas con propiedades adecuadas de remediación, así como la inclusión de las especies de plantas que aloja comunidades de la rizósfera (bacterias y hongos) activas contra los contaminantes específicos que se encuentran presentes [56].

La fitorremediación se aprovecha de las capacidades de absorción únicas y selectivas de los sistemas de raíces de las plantas, junto con la translocación, bioacumulación, y las capacidades de almacenamiento / degradación de contaminantes de todo el cuerpo de la planta [58].

La fitorremediación se considera una tecnología eficaz en costos y no altera el medio ambiente, a diferencia de los métodos de limpieza mecánicos tales como la excavación del suelo o de bombeo de agua subterránea contaminada [59]. En los últimos 20 años, esta tecnología se ha convertido cada vez más popular y se ha empleado en sitios con suelos contaminados con plomo, uranio y arsénico.

Por otro lado, una desventaja importante de la fitorremediación es que requiere un compromiso a largo plazo, ya que el proceso es dependiente del crecimiento de la planta, la capacidad de bioacumulación y la tolerancia a la toxicidad [60]. La fitorremediación funciona mejor en los sitios con cantidades bajas a medias de la contaminación [61].

Las plantas cultivadas para la fitorremediación también pueden ayudar a mantener los productos químicos nocivos en un sitio contaminado y evitar que se mueva a otras áreas. Las plantas limitan la cantidad de productos químicos que pueden ser arrastrados por el viento o por la lluvia que absorbe en el suelo o en los flujos de la escorrentía [61].

El tiempo que se necesita para limpiar un sitio mediante fitorremediación depende de varios factores: 1) el tipo y número de plantas que se utilizan; 2) el tipo y cantidades de productos químicos nocivos presentes, y 3) el tamaño y la profundidad de la zona contaminada, y 4) el tipo de suelo y las condiciones presentes. Estos factores varían de un sitio a otro. Las plantas pueden tener que ser reemplazadas si se destruyen por el mal

tiempo o los animales, lo que añade tiempo a la limpieza. A menudo, se necesitan muchos años para limpiar un sitio con fitorremediación [61].

Las ventajas de la fitorremediación son: 1) el costo de la fitorremediación es menor que el de los procesos tradicionales in situ; 2) las plantas pueden controlarse fácilmente; 3) la posibilidad de la recuperación y reutilización de los metales valiosos; 4) es potencialmente el método menos perjudicial, ya que utiliza organismos naturales y preserva el medio ambiente en un estado más natural [62], 5) menos equipos y mano de obra que otros métodos ya que las plantas hacen la mayoría del trabajo; 6) los árboles y las plantas pueden hacer un sitio más atractivo ; 7) el sitio se puede limpiar sin eliminar la contaminación del suelo o el bombeo de agua subterránea contaminada, esto permite a los trabajadores evitar el contacto con productos químicos nocivos [61]. Por otra parte, las desventajas son: 1) la fitorremediación se limita al área de la superficie y la profundidad ocupada por las raíces; 2) el crecimiento lento y la biomasa baja requieren un compromiso a largo plazo; 3) con sistemas a base de plantas de remediación, no es posible prevenir completamente la lixiviación de los contaminantes en el agua subterránea; 4) la supervivencia de las plantas se ve afectada por la toxicidad de la tierra contaminada y la condición general del suelo; 5) bio-acumulación de contaminantes, especialmente metales, en las plantas que luego pasan a la cadena alimentaria, desde los consumidores de nivel primario del sistema educativo y / o requiere la eliminación segura del material vegetal afectado [62].

El uso de especies de plantas nativas para la fitorremediación es generalmente favorecido; las especies nativas requieren menos mantenimiento y presentan menos riesgos ambientales y humanos de lo que hacen las especies no autóctonas o genéticamente alteradas. Las especies no nativas que requieren fertilizantes o grandes cantidades de riego contribuirán, en vez de reducir, a los efectos negativos de las aguas de escorrentía. Comunidades de plantas nativas debidamente seleccionadas son más tolerantes a los suelos, condiciones climáticas, y los ciclos estacionales de inundaciones y la sequía [63].

Poblaciones microbianas y su nivel de actividad están fuertemente influenciados por los niveles de pH del suelo y la disponibilidad de agua. La mayoría de la actividad biológica se produce en suelos con niveles de pH entre 5 y 10. Los niveles bajos de pH son óptimos para la disponibilidad de metal, pero pueden tener efectos adversos sobre la vegetación. La actividad microbiana se maximiza cuando el 60 por ciento del espacio de los poros del suelo se llena con agua, la actividad es casi ausente con baja disponibilidad de agua. Suelos saturados han limitado el oxígeno disponible, forzando una disminución de la actividad microbiana [64].

Las características físicas del suelo, como los porcentajes de arcilla y / o arena, pueden alterar la disponibilidad de oxígeno, los nutrientes y el agua para el uso de plantas



y microbios. Los suelos con alto contenido de arcilla, por ejemplo, tienen menor conductividad hidráulica y coeficiente de difusión, y pueden hacer de los contaminantes un ambiente no disponible para los microorganismos. La presencia de vegetación puede promover el desarrollo de la estructura del suelo, aumentar la actividad microbiana dentro de la rizósfera, y, como resultado, mejorar el transporte de agua, nutrientes, y los contaminantes a través del sistema de suelo. Además de enmiendas orgánicas, como la composta, que a los suelos urbanos perturbados se le puede añadir el crecimiento de las raíces de la planta, mejorar la capacidad de retención de agua del suelo, y alentar una amplia variedad de organismos del suelo [64].

Los principales nutrientes de las plantas son el nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg) y azufre (S). Estos importantes nutrientes provienen de la tierra y las plantas utilizan grandes cantidades para su crecimiento y supervivencia [65]. El arsénico (As) podría ser absorbido por las plantas, ya que es similar al fosfato nutriente de las plantas. Por su parte, el cadmio (Cd) podría de igual manera ser absorbido por las plantas, ya que también es similar a los nutrientes de la planta como son el Ca y Zn, etc [66].

La fitorremediación requiere que el metal como el objetivo principal debe (1) estar a disposición de la raíz de la planta, (2) ser absorbido por las raíces, y (3) translocación desde la raíz hasta el retoño. El metal se elimina desde el sitio por la recolección del material vegetal. Después de la cosecha, la biomasa se procesa para recuperar el metal o bien, para concentrar aún más el metal para facilitar su salida [62].

Las tecnologías de fitorremediación están en las primeras etapas de desarrollo, con la investigación de laboratorio y ensayos de campo limitados siendo llevadas a cabo para determinar los procesos y refinar los métodos. La investigación adicional, incluyendo la ingeniería genética, se está llevando a cabo para mejorar las capacidades naturales de las plantas para realizar funciones de remediación y para investigar otras plantas con potenciales aplicaciones de fitorremediación [61]. El progreso en la fitorremediación se ve obstaculizado por la falta de comprensión de las interacciones complejas entre la rizosfera y la planta que permiten la translocación del metal y su acumulación en las plantas [67].

#### **2.4.1 DEFINICIONES DE ESPECIES TOLERANTES, INDICADORAS, E HIPER-ACUMULADORAS**

Una especie tolerante es una que puede crecer en suelo con concentraciones de un elemento en particular que es tóxico para la mayoría de otras plantas [68]. Mientras que ambas especies indicadoras e hiper-acumuladoras también son tolerantes. Sin embargo, las especies tolerantes no son necesariamente indicadoras o hiper-acumuladoras, por lo que las especies tolerantes no acumuladoras pueden excluir a metales e impedir que estos entren en el tejido de la raíz [55].

Las plantas indicadoras se han empleado en prospección biogeoquímica. Esta observación llevó a otros a asociar los sitios donde estas plantas crecen con tierra que contiene elevados valores de Zn. Los ejemplos incluyen los musgos, que han sido reconocidos como bioindicadores de altas concentraciones de metal en el agua, lo cual es un indicador reconocido de Se [55].

Especies hiper-acumuladoras ocupan particularmente altas cantidades de una sustancia tóxica, por lo general un metal o metaloide, en sus brotes durante el crecimiento y la reproducción normal. La concentración de metal / metaloide que debe ser acumulado por la planta antes de que se designe una hiper-acumuladora depende del metal o metaloide particular en cuestión. Sin embargo, la hiper-acumulación se refiere a la capacidad natural de ciertas plantas que describen un nivel altamente anormal de acumulación de metales, incluso algunos metales que no parecen ser necesarios para el funcionamiento de plantas [69]. Las plantas hiper-acumuladoras se encuentran en 45 familias diferentes, con la mayor incidencia entre las *Brassicaceae*. Estas plantas son muy variadas, desde arbustos y árboles perennes hasta pequeñas hierbas anuales [70]. La hiper-acumulación se asocia a menudo con plantas con las tasas de crecimiento relativamente lento [71].

#### 2.4.2 ¿CÓMO ABSORBEN Y TRANSPORTAN LAS PLANTAS EL METAL?

Metales solubles pueden entrar en el simplasto raíz al cruzar la membrana plasmática de las células de la raíz endodérmicas o pueden entrar en el apoplasto de raíz a través del espacio entre las células (figura 2-20 y 2-21). Si el metal se transloca a los tejidos aéreos, entonces debe entrar en el xilema. Para entrar en el xilema, solutos deben cruzar la banda de Caspari (figura 2-22), una capa de cera que es impermeable a los solutos, a menos que pasen a través de las células de la endodermis probablemente a través de la acción de una bomba o canal de la membrana. Una vez cargado en el xilema, el flujo de la savia del xilema transportará el metal a las hojas, donde se debe cargar en las células de la hoja, cruzando de nuevo una membrana. Una vez en los tejidos del brote o de la hoja, los metales pueden ser almacenados en diferentes tipos de células, dependiendo de la especie y la forma del metal, ya que se puede convertir en formas menos tóxicas (a la planta) a través de la conversión química. El metal puede ser secuestrado en varios compartimentos subcelulares (pared celular, citosol, y vacuola) o volatiliza a través de los estomas (figura 2-23). Los tipos de células en los que se depositan los metales varían entre las especies hiper-acumulador As. Por ejemplo, se encontró QUE *T. caerulescens* dispone de más Zn en la epidermis que en su mesófilo (figura 2-23), mientras que *A. Halleri* acumula su Zn preferentemente en las células del mesófilo en lugar de sus células de la epidermis [55].

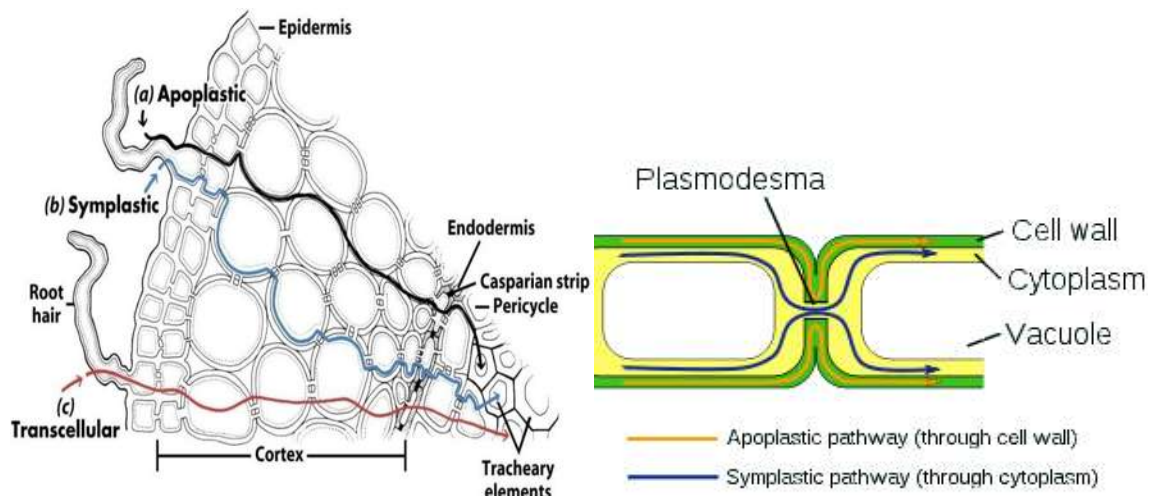


Figura 2- 20: Caminos de agua dentro de las células, diferentes fotos para diferentes vías: por el apoplasto, simplástica y transcelular.

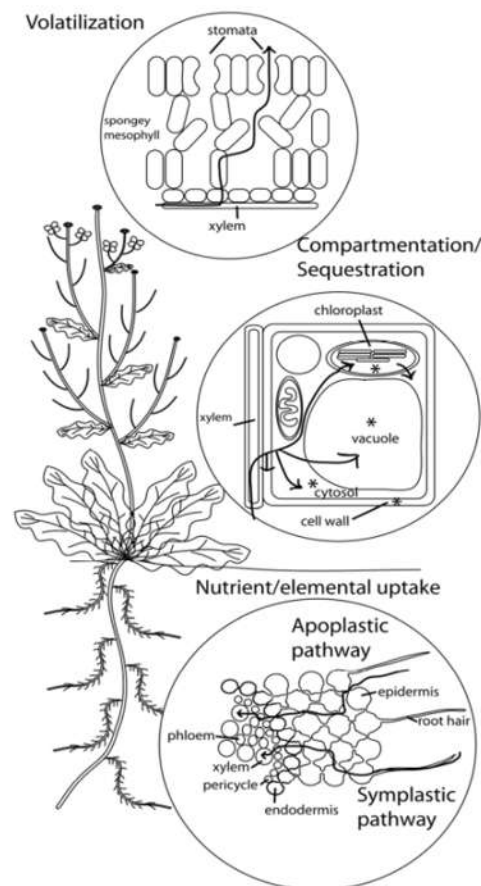


Figura 2- 21: Camino de metales / absorción de nutrientes en las plantas.

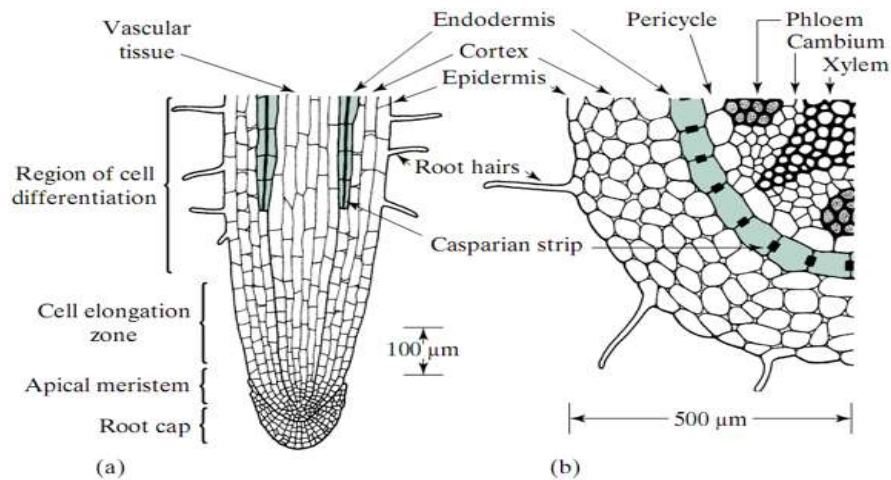


Figura 2- 22: Diagramas esquemáticos de una raíz joven: (a) sección longitudinal, que indica las zonas que pueden ocurrir cerca de la punta de la raíz, y (b) vista en sección transversal de nuevo aproximadamente 10 mm desde la punta, lo que indica la disposición de los diversos tipos de células [68].

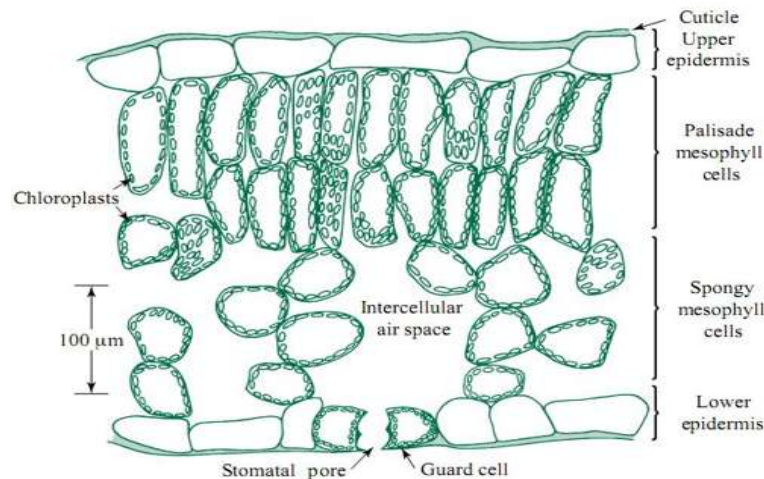


Figura 2- 23: sección transversal esquemática a través de una hoja, lo que indica la disposición de los diversos tipos de células. Con frecuencia de 30 a 40 células del mesófilo se producen por estoma [68].

Una vez que los productos químicos dentro de las plantas, los productos químicos pueden ser: 1) almacenados en las raíces, tallos y hojas, o 2) transformados en sustancias menos perjudiciales dentro de la planta, o 3) se transformaron en los gases que se liberan en el aire cuando la planta transpira (respira) [61].

La fitorremediación puede producirse incluso si no se tienen los químicos en las raíces de la planta. Por ejemplo, los productos químicos pueden adherirse o absorberse en las raíces de las plantas. O pueden ser cambiados a sustancias químicas menos dañinas por insectos o microbios que viven cerca de las raíces de plantas [61].

### **2.4.3 SOLUBILIZACIÓN DEL METAL DE LA MATRIZ DEL SUELO**

Muchos metales se encuentran en formas insolubles del suelo. Las plantas utilizan dos métodos para desorber los metales de la matriz del suelo: la acidificación de la rizosfera a través de la acción de las bombas de protones de membrana plasmática y la secreción de ligandos capaces de quelar el metal. Las plantas han desarrollado estos procesos para liberar los metales esenciales de la tierra, pero los suelos con altas concentraciones de metales tóxicos liberarán tanto metales esenciales como aquellos tóxicos a la solución [55].

### **2.4.4 DESINTOXICACIÓN / QUELACIÓN**

En cualquier punto a lo largo del camino, el metal podría ser convertido a una forma menos tóxica a través de la conversión química. Varios estados de oxidación de los elementos tóxicos tienen muy diferente captación, transporte, y características de secuestro o toxicidad en las plantas. La quelación de toxinas por compuestos de plantas endógenas también puede tener efectos similares sobre todas estas propiedades anteriormente mencionadas. Como muchos quelantes utilizan grupos tiol como ligandos, las vías de biosíntesis de azufre (S) han demostrado ser críticas para la función hiper-acumuladora y para las posibles estrategias de fitorremediación. El estrés oxidativo es uno de los efectos más comunes de la acumulación de metales pesados en las plantas, y el aumento de las capacidades anti-oxidantes de especies hiper-acumuladoras permite la tolerancia de las concentraciones más altas de metales [55].

### **2.4.5 SECUESTRO / VOLATILIZACIÓN**

El paso final para la acumulación de la mayoría de los metales es el secuestro del metal alejado de cualquier proceso celular que dicha acumulación pudiera perturbar. El secuestro por lo general se produce en la vacuola de la planta (Figura 2.24), donde el metal / metal-ligando debe ser transportado a través de la membrana vacuolar. Los metales también pueden permanecer en la pared de la célula en vez de cruzar la membrana plasmática en la célula, así como los sitios de carga negativa en las paredes de las células pueden interactuar con cationes polivalentes (o multivalencia). El selenio también puede volatilizarse a través de los estomas [55].

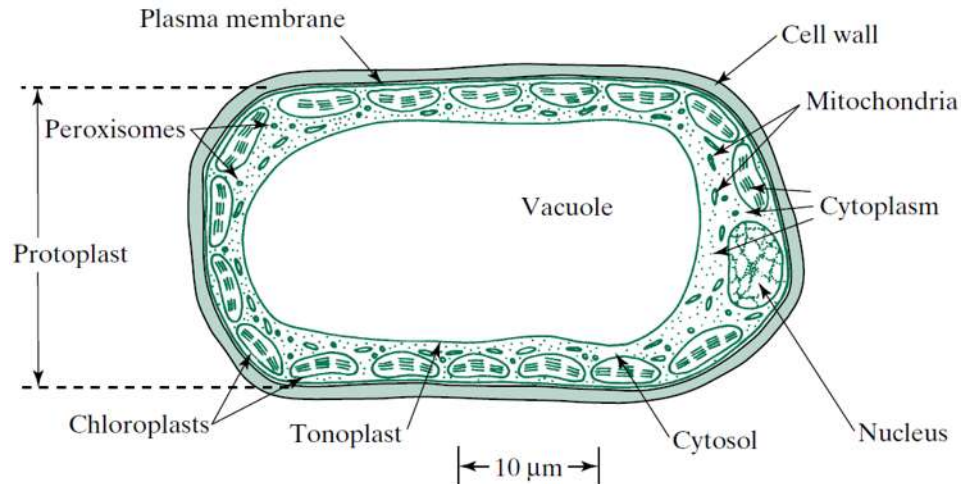


Figura 2- 24: Representación esquemática de una célula madura mesófila de la hoja de una planta floreciente, lo que sugiere parte de la complejidad que resulta de la presencia de muchas membranas rodeadas de compartimentos subcelulares [68].

#### 2.4.6 APLICACIONES DE LA FITOREMEDIACIÓN

Las aplicaciones de fitorremediación se pueden clasificar basándose en los contaminantes (metales, orgánicos, inorgánicos y) destino: 1) la degradación; 2) la extracción con las plantas; 3) la contención dentro de la planta / inmovilización; 4) una combinación de estos mecanismos [72].

Las plantas realmente necesitan metales, tales como zinc y cobre, así como los nutrientes, para crecer. Cuando el suelo que rodea la raíz de plantas es deficiente en elementos esenciales, las plantas presentan síntomas indicativos de deficiencia (pérdida de color de las hojas, se marchitan, puntos muertos, etc.) [71], algunas plantas, sin embargo, referidas como hiper-acumuladoras, no hacen distinción entre metales pesados (como el cadmio o selenio) y los metales nutricionalmente necesarios para el crecimiento; estas plantas absorben los metales a través de la estructura de la raíz y los almacena en las vacuolas celulares (Figura 2-24), donde se han medido los tejidos para contener 1.000 a 10.000 ppm de diversos metales pesados [73and 74].

##### 2.4.6.1 DEGRADACIÓN

Las plantas pueden aumentar la degradación en la rizosfera. Recuentos microbianos en suelos rizosfera pueden ser 1 o 2 órdenes de magnitud mayor que en los suelos no-rizosféricos, no se sabe si esto es debido a microbiana o fúngica simbiosis con la planta, exudados de plantas incluyendo enzimas, u otros efectos físicos / químicos en la zona de las raíces [72].

Otro posible mecanismo para la degradación del contaminante es el metabolismo dentro de la planta. Algunas plantas pueden ser capaces de tomar en compuestos tóxicos y en el proceso de metabolización de los nutrientes disponibles, desintoxicarlos. El tricloroetileno (TCE) es posiblemente degradado en los árboles de álamo y el carbón utilizado para el crecimiento de los tejidos, mientras que el cloruro es expulsado a través de las raíces [72].

#### **2.4.6.2 EXTRACCIÓN**

La fitoextracción, o Phytomining, es el proceso de la plantación de un cultivo de una especie que se sabe que se acumulan los contaminantes en los brotes y las hojas de las plantas, y luego, la cosecha del cultivo y la eliminación de los contaminantes del sitio. A diferencia de los mecanismos de degradación destructivos, esta técnica produce una masa de planta y contaminante (típicamente metales) que debe ser transportada para su eliminación o reciclaje [72].

Rizofiltración es similar a la fitoextracción en que también es una tecnología de concentración. Se diferencia de la fitoextracción en que el mecanismo de la acumulación en la raíz y la cosecha se hace utilizando técnicas de cultivo hidropónico. Esto es útil para la separación de los contaminantes metálicos del agua [72].

#### **2.4.6.3 CONTENCIÓN E INMOVILIZACIÓN**

La contención utilizando plantas, hace que los contaminantes en el suelo se unifiquen, lo que los hace no bio-disponibles, o los inmoviliza mediante la eliminación de los medios de transporte. Ciertos árboles secuestran grandes concentraciones de metales en sus raíces, y aunque la recolección y eliminación es difícil o poco práctica, los contaminantes que presentan un riesgo para las personas o el medio ambiente podrían disminuirse mientras estén secuestrados en las raíces. La reducción del riesgo también se puede lograr mediante la transformación del contaminante en una forma que no es peligrosa, o haciendo no biodisponible el contaminante [72].

## CAPÍTULO 3: VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS

### 3.1 INTRODUCCIÓN

El método de validación es el proceso por el cual se establece que las características de funcionamiento del método se reúnen todos los requisitos de las aplicaciones de análisis previstos. Los métodos deben ser validados o revalidados antes de su introducción en el uso rutinario. Todos los métodos analíticos que están destinados a ser utilizados para el análisis de las muestras tendrán que ser validados [75]. Los parámetros generalmente examinados en el proceso de validación son: los límites de detección, sensibilidad, exactitud, precisión, etc [76].

El objetivo de cualquier medición analítica es la obtención de datos coherentes, fiables y precisos. Métodos analíticos validados, juegan un papel importante en el logro de esta meta. También se requiere la validación de métodos de análisis para las normas de calidad que impacta a los laboratorios [75].

La validez de un método específico debe ser demostrada en experimentos de laboratorio con muestras o estándares que son similares a las muestras desconocidas analizadas rutinariamente. La preparación y la ejecución deben seguir un protocolo de validación [9]. Como científicos, nos gustaría aplicar la buena ciencia para demostrar que el método analítico utilizado había demostrado la precisión, sensibilidad, especificidad y reproducibilidad [76]. Todos los objetivos de este trabajo dependen del método de estandarización de los análisis de los helechos, musgos, agua, suelo y sedimentos.

La Espectrometría Fluorescencia de Rayos X (XRF) es una herramienta con alta exactitud común para el análisis de elementos de manera reproducible, precisa, y no destructiva, de alta precisión [77 y 21], el método es bastante simple, preciso y rápido para ser utilizado rutinariamente para análisis de alta resolución. Una de las ventajas más importantes de la Espectrometría Energía Dispersiva de Fluorescencia de Rayos X (EDXRF) es el análisis simultáneo de elementos desde Na hasta U, la radiación primaria dispersa en la muestra se registra simultáneamente con la señal de fluorescencia. En la práctica, la muestra se excita varias veces. Las sensibilidades y los límites de detección obtenidos con excitación directa podrían mejorarse hasta un orden de magnitud mediante el uso de radiación polarizada (PEDXRF). El fenómeno de la polarización, examinado por primera vez por Barkla, se ha utilizado y mejorado continuamente desde el comienzo de los años 70 [32].



El uso de técnicas de XRF es extremadamente ventajoso para el análisis de las muestras ambientales y valioso debido a la concurrencia de tres características muy importantes: la capacidad de realizar un análisis completamente no destructivo; la posibilidad de obtener resultados en un tiempo mucho más corto y a menor precio en comparación con el análisis por activación neutrónica instrumental (INAA) [78].

Todos los instrumentos XRF comienzan con los recuentos totales recibidos por el detector para una energía que es específica para cada elemento. El límite de detección, la exactitud y la precisión de la medición se determinan directamente por la magnitud de los recuentos totales y la resolución del ancho de la punta. Los recuentos totales se expresan como la intensidad que se cuenta por segundo [79].

Los criterios de evaluación se basan en las características de rendimiento para todos los sistemas de PEDXRF tales como límite de detección, la exactitud y la incertidumbre de la medición, por una parte, y también la influencia del pretratamiento de la muestra en los resultados obtenidos en la otra parte [80]. El otro aspecto crítico de la precisión analítica es la capacidad de reproducir los mismos valores de concentración en muchas muestras preparadas separadamente.

La espectrometría PEDXRF tiene muchas ventajas en términos de: (1) la capacidad multi-elemento simultánea, (2) rango dinámico más amplio, a partir de partes por millón (ppm) a 100%, (3) Procedimiento sencillo de preparación de muestras, (4) la evitación de recuperación pobre de ciertos elementos durante la digestión ácida, (5) funcionamiento más fácil de la máquina, (6) más alto rendimiento de la muestra, (7) una buena reproducibilidad, (8) bajos costos de operación. Debido a estas ventajas inherentes, la fluorescencia de rayos X ha sido ampliamente adaptada para el análisis de elementos mayores y traza [81 y 82].

Materiales de referencia estándar (SRM) son controles o normas utilizadas para comprobar la calidad y la trazabilidad de los productos. Un patrón de referencia para una unidad de medida es un artefacto que encarna la cantidad de interés de manera que su valor esté vinculado a la base de referencia para la calibración. La importancia de los materiales especificados de riesgo en la garantía de calidad de las mediciones es ampliamente aceptada. MER se utiliza con frecuencia en la química analítica para la calibración, la verificación y la evaluación de ambos métodos e instrumentos analíticos [83]. La exactitud del análisis de fluorescencia de rayos X cuantitativa depende de un conjunto de estándares de calibración. Actualmente, muchos laboratorios están utilizando materiales especificados de riesgo, tanto para la calibración y normas de calificación.

El objetivo de este trabajo es la caracterización del factor de exactitud y precisión de la rutina de análisis menos estandarizada TURBOQUANT® en el PEDXRF, para los MER

suelo-cerámica de SRMs en un ambiente en He en un rango de concentración porcentaje (%). El manual de la máquina PEDXRF utilizado en este trabajo, el SPECTERO XEPOS III recomienda que el peso de la muestra debe ser 4g en copas de muestra 24 mm de diámetro, pero es difícil ofrecer esa cantidad en muestras, además, si los vasos de muestras más pequeñas o diámetros de pastillas producen casi el mismo factor de mérito, entonces, muestras de masas más pequeñas pueden ser utilizadas.

### 3.1.1 FUNDAMENTO TEÓRICO DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS

La característica más importante del espectrómetro de fluorescencia de rayos X se utiliza para fines de análisis, o de análisis de fluorescencia de rayos X, es la sensibilidad analítica  $S_j$  para el  $j^{\text{th}}$  elemento en la matriz de la muestra. La correspondiente energía del haz de rayo x fluorescente es  $E_{ij}$  donde me refiero al nivel atómico específico involucrado en la fluorescencia (K, L, M ...). Cuanto mayor sea la sensibilidad, más preciso será el análisis de XRF.

El número de cuentas recogidas en la punta dividida por el tiempo de conteo es la tasa de recuento  $R_j$

$$R_j = S_j \cdot C_j \quad (3.1)$$

Donde  $C_j$  es la concentración del elemento dado como masa del elemento dividido por la masa de la muestra

$$R_j \propto N_{ij} \quad (3.2)$$

Donde  $N_{ij}$  es el número de fotones fluorescentes procedentes del nivel  $i^{\text{th}}$  del elemento  $j$ .  $N_{ij}$  a su vez depende de dos factores: el rendimiento de fluorescencia  $\omega_i$  el nivel  $i^{\text{th}}$  y  $F(E_{ij})$  el factor de atenuación de fotones de rayos X

$$N_{ij} \propto \omega_i \cdot F(E_{ij}) \quad (3.3)$$

$$F(E_{ij}) = 1 - e^{-\frac{\mu_{ij}}{\rho} \times \rho \times d} \quad (3.4)$$

Donde  $\frac{\mu_{ij}}{\rho}$  es el coeficiente de atenuación de masa. Para los elementos de medios y pesados en las típicas energías de excitación de rayos x es decir, la energía del haz primario,  $\sim 50\text{keV}$ , la atenuación es en gran medida por la absorción fotoeléctrica que da lugar a la emisión de una radiografía fluorescente. Los factores  $\omega_i$  son más altos para las emisiones de la capa-k y aumentan con  $Z_i$ .

Por la ley de Moseley, el aumento  $E_{ij}$  con el aumento de  $j$ .  $\rho$  es la densidad de la muestra y  $d$  es el espesor de la muestra la ecuación (4) se puede escribir como

$$F(E_{ij}) = 1 - e^{-\frac{\mu_{ij}}{\rho} \times \frac{m}{A \times d} \times d} \quad (3.5)$$

m es la masa de la muestra y A es el área de la cara de la muestra expuesta al haz primario de rayos X que es equivalente a la cara desde donde los rayos x fluorescen saliendo hacia el detector en el típico instrumento de geometría reflectante.  $\frac{m}{A}$  ( $g/cm^2$ ) se llama la densidad de almacenamiento. Todos los efectos de la matriz de muestra proceden de la expresión  $\frac{m}{A}$ .

Por lo tanto en cuanto a los elementos de Z se refiere a la asimilación fotoeléctrica y fluorescente aumenta el rendimiento con  $Z_j$ . Para las muestras de los mismos analitos, la densidad de área de mayor a Z se mostrará con una mayor precisión.

Por la misma masa alta A,  $F_{ij}$  incrementa el haz principal que resulta en una tasa de recuento superior o una mayor precisión. Pero con el mismo argumento, aumentará la auto-absorción de  $E_{ij}$ . Una técnica de aumento de m es para peletizar las pastillas de las muestras. Una técnica para reducir A es usar vasos de muestras de diferentes diámetros.

Objetivos: (1) determinar y comparar el factor de exactitud y precisión para diferentes diámetros del receptáculo de muestra (10, 15 y 24 mm) y pesos, con la misma profundidad física; (2) determinar y comparar el factor de exactitud y precisión para diferentes diámetros de pastilla (10, 15, 25 mm) y pesos, con la misma profundidad física; (3) para determinar y comparar el factor de exactitud y precisión para diferentes diámetros del receptáculo de muestra (10, 15 y 24 mm) y profundidades físicas, con el mismo peso = 0,5 g; (4) comparar el factor de exactitud y precisión entre la muestra diferente copa y diámetros de pastillas; (5) determinay el mejor factor de exactitud y precisión del método para las futuras mediciones en nuestro laboratorio.

### 3.2 MATERIALES Y MÉTODOS

El método de estandarización para la medición de elementos pesados por PEDXRF es muy importante para garantizar la calidad de este trabajo. El método de validación para PEDXRF se realiza por dos SRM de cerámica y uno de suelo y, una arcilla plástica -98 (NIST, Maryland, EE.UU.) y polvos GSS-1 (NRCG, Beijing, China), difiere en sus propiedades intrínsecas de la matriz de tamaño de grano, masa y densidades de de monocapa superficies, así como las concentraciones elementales.

Arregladas las dimensiones fijas de la copa de muestra o diámetro de la matriz y el área fija, la profundidad será dictadas por la masa de la muestra y la densidad por el tipo de preparación de la muestra (en polvo o pastilla). En las otras palabras, el incidente de los rayos x de absorción dependerá del área de la muestra, la profundidad, la densidad y la

composición elemental de la muestra, el flujo de una fluorescencia de rayos X que llega al detector se registrará por la medida de la auto-absorción por la muestra que dependerá de la profundidad y la composición elemental, debido a la interacción de todos estos factores, se llevan a cabo experimentos dirigidos a entender los límites de exactitud y precisión en el análisis PEDXRF utilizando el instrumento específico SPECTERO XEPOS III.

### 3.2.1 INSTRUMENTACIÓN

La espectrometría PEDXRF FUE utilizada en el presente trabajo; el SPECTERO XEPOS III (Spectro Analytical Systems GmbH, Kleve, Alemania) utiliza un extremo del tubo ventana de Pd-blanco a una potencia máxima de 50 W y un voltaje máximo de 50 kV para excitar las muestras [84]. El cambiador de destino, con un máximo de 8 polarización y los objetivos secundarios, ofrece diferentes condiciones de excitación que garantizan la determinación óptima de todos los elementos desde Na hasta U. Además, punto focal 1mm<sup>2</sup> para la radiografía y el sistema de detección eficaz de 10mm<sup>2</sup>, Si- Drift Detector de alto rendimiento (SDD) con refrigeración Peltier, trabajando con -25 a -30 °C. Sofoque (o purga) con helio para evitar la pérdida de energía causada por la dispersión en el aire, esto mejora la sensibilidad para elementos ligeros tales como Na, Mg, Al y Si [77]. Además, permite el análisis directo (no estandarizado) a través de los parámetros fundamentales de la TURBOQUANT de rutina, en donde el detector con características de la matriz de la muestra y de fondo de fotones recuentos se corrigen de forma automática [85]; detalles DE SPECTERO XEPOS III se encuentran en el Anexo 1.

TURBOQUANT es la marca de un método SPECTERO que se utiliza para el análisis de cribado. El método es capaz de analizar los elementos desde Na hasta U en muestras totalmente desconocidas, todos los efectos de la matriz que se producirán son tomados en cuenta (Manual de usuario del SPECTERO XEPOS III); polvo y pastillas utilizados-TURBOQUANT. La excitación de todos los elementos <sup>11</sup>Na-<sup>92</sup>U se divide en tres mediciones individuales utilizando diferentes objetivos; los elementos de luz <sup>11</sup>Na-<sup>23</sup>V son excitados mediante un HOPG (grafito pirolítico altamente orientado) de blanco de Bragg; rayos X intensos polarizados monocromáticos; los elementos <sup>24</sup>Cr-<sup>40</sup>Zr and <sup>59</sup>Pr-<sup>92</sup>U están excitados con un objetivo secundario Mo; intensos rayos X monocromática que no son polarizados; y elementos de alta energía <sup>39</sup>Y-<sup>58</sup>Ce están excitados con objetivo Barkla Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>; rayos X intensos polarizadas policromáticos. De hecho, todos los elementos de la <sup>11</sup>Na to <sup>58</sup>Ce, líneas K, son utilizados y para todos los elementos de <sup>59</sup>Pr to <sup>92</sup>U, se utilizan líneas L (manual del usuario SPECTERO XEPOS III); TURBOQUANT detalles se encuentran en el Anexo 2.

### 3.2.2 PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Dos materiales especificados de riesgo SRMs se eligen, de cerámica 98a arcilla plástica y suelo GSS-1. Detalles, las concentraciones y los elementos que compone la GSS-1 y 98a arcilla plástica están en la Tabla 3-1, por el otro lado, las propiedades físicas del suelo tomadas en cuenta, el tamaño medio de partícula medida por el analizador de partículas láser (LS100Q de partículas láser Analizador Beckman Coulter Corp. , California, EE.UU.), el tamaño medio de partícula de GSS-1 =  $5.955 \pm 3.293 \mu\text{m}$  y 98a arcilla plástica =  $12.980 \pm 3.387 \mu\text{m}$ , mientras que, la densidad medida para GSS-1 =  $1069.604 \pm 14.631 \text{ kg/m}^3$  y 98a arcilla plástica =  $1208.105 \pm 40.406 \text{ kg/m}^3$ . Los tamaños de partículas y la heterogeneidad pueden influir en los resultados de los análisis, si no se contabilizan cuando se establecen las rutinas de preparación de muestras. La preparación de la muestra y la variación de tamaño de partículas son las principales fuentes potenciales de error. Además, el tamaño de partícula debe ser  $\leq 100 \mu\text{m}$  según las recomendaciones de SPECTRO XEPOS III (manual del usuario SPECTRO XEPOS III).

| Elemento | 98a-Arcilla Plástica<br>Concentración<br>% | GSS-1<br>Concentración<br>% |
|----------|--------------------------------------------|-----------------------------|
| Na       | $0.0608 \pm 0.0016$                        | $1.2315 \pm 0.0297$         |
| Mg       | $0.2533 \pm 0.0043$                        | $1.0915 \pm 0.0482$         |
| Al       | $17.5658 \pm 0.0566$                       | $7.5048 \pm 0.0741$         |
| Si       | $22.8760 \pm 0.0231$                       | $29.2611 \pm 0.0654$        |
| P        | $0.0480 \pm 0.0025$                        | -                           |
| K        | $0.8634 \pm 0.0457$                        | $2.1501 \pm 0.0332$         |
| Ca       | $0.2216 \pm 0.0000$                        | $1.2293 \pm 0.0429$         |
| Ti       | $0.9651 \pm 0.0213$                        | -                           |
| Cr       | $0.0205 \pm 0.0048$                        | -                           |
| Fe       | $0.9372 \pm 0.0271$                        | $3.6300 \pm 0.0629$         |
| Sr       | $0.0330 \pm 0.0024$                        | -                           |
| Ba       | $0.0269 \pm 0.0006$                        | -                           |

Tabla 3- 1: Concentraciones SRMs para elementos.

La humedad reducirá la absorción de rayos X (la dispersión aumentará) en la superficie de la muestra y aumentará la señal [86]. GSS-1 y 98a-arcilla plástica se secaron en el horno oven por lo menos durante 24 horas a 60 0C antes de las mediciones.

Diferentes geometrías en tazas de la muestra (figura 3-1) y diámetros die (figura 3-2 y 3-3) utilizadas en este experimento, la muestra en taza de 24mm (SPECTRO Xepos III), de 15 mm y 10 mm (Chemplex Industries, Inc.), por otra parte, die diámetro de 25, 15 y 10 mm utilizados; la profundidad física y las mediciones de diámetro de las pastillas fue realizado por una pinza digital vernier.

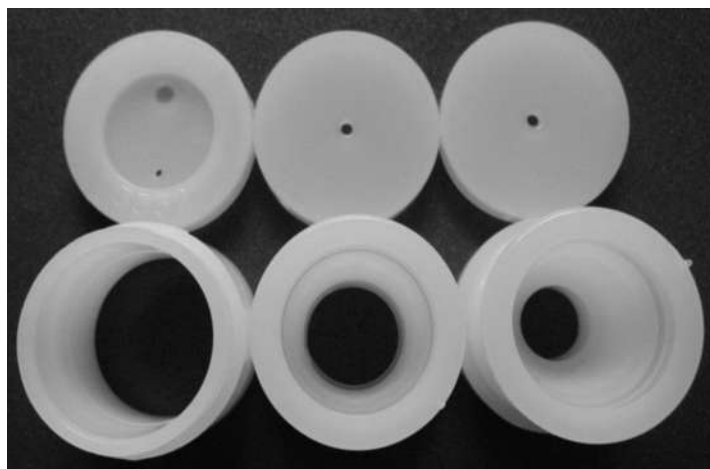


Figura 3- 1: Tazas de muestra de diferentes diámetros 24, 15 and 10mm.



Figura 3- 2: Dado de diferentes diámetros 10, 15 and 25mm.



Figura 3- 3: Pastillas de diferentes diámetros 25, 15 and 10mm.

Después de tapar las copas de muestra con (pastillas no tapadas) las muestras fueron colocadas en una bandeja rotativa de posición 12, que a continuación se inserta en la cámara de medición de la XEPOS SPECTRO III. 4 micras de película Prolene fueron utilizados como la ventana de rayos X de la muestra; PEDXRF en el análisis, las muestras se irradiaron y analizaron por TURBOQUANT-polvo o pastilla. Cada muestra necesita 23min para una medición completa.

Pelletización en la pastilla es necesaria para los análisis químicos cuantitativos defendibles para elementos de bajo número atómico. Si hay interés en los elementos ligeros como Na-S, las muestras deben ser preparadas como pastillas. Esto evita los efectos de superficie, que tienen una alta influencia en la determinación de los elementos de luz [87]. De hecho, la mayor densidad de los pellets de elementos ligeros (Na-S), cuyos rayos X (fotoeléctrico) secciones transversales de absorción bajos, probablemente darán una mejor exactitud y precisión.

Una pastilla prensada debe cumplir, básicamente, la siguiente calidad para PEDXRF: (1) Debe ser homogénea; (2) el sedimento debe ser absolutamente sólido pues en forma de partículas sueltas contaminan el tubo de rayos X; (3) el sedimento debe ser estable (y almacenable), (4) superficie fina, (5) de grano fino, pequeño tamaño de partícula  $\leq 100\mu\text{m}$ ; (6) compacta y plana. La ventaja de la adición de agente de unión hace que el sedimento: (1) superficie indeleble; (2) no higroscópico (para almacenamiento); (3) estabilizar la pastilla.

La pastilla y la copa de muestra 4g de peso con un diámetro de 25 mm y 24 mm son tomados como estándar; la profundidad física y el diámetro se miden y se calcula la densidad de pastillas de 25 mm, y la profundidad física para la copa de muestra de 24 mm de medida; la profundidad física y la densidad de pastilla de 25 mm de diámetro, y profundidad física para la muestra de 24 mm de diámetro en la taza tomada como referencia para los otros precipitados y copas de muestra con diferentes diámetros. Pastilla de cera se hizo por seguir el manual del usuario SPECTRO XEPOS III, muestra 4g plus 0,9 g de cera (Hoechst, Alemania); pastillas hechas utilizando Prensa Hidráulica (TRUPER, el modelo es PREH-20, México).

Todas las pastillas fueron hechas con la misma presión (fuerza / área) =  $207.2 \times 10^6 \text{ N/m}^2$ . En efecto, las pastillas pueden tener la misma densidad aproximadamente, la densidad media de GSS-1 con diferentes diámetros de pastillas (25, 15 y 10 mm), sin cera =  $2.071 \times 10^{-3} \pm 1.404 \times 10^{-5} \text{ g/mm}^3$ , con cera (25mm) =  $1.827 \times 10^{-3} \pm 6.519 \times 10^{-6} \text{ g/mm}^3$  y 98a arcilla plástica para diferentes diámetros de pastillas (25, 15 y 10 mm) =  $1.985 \times 10^{-3} \pm 8.102 \times 10^{-6} \text{ g/mm}^3$ ; la cera disminuyó la densidad, y aumentó la profundidad física de la pastilla; aún más, la cera consiste de materiales de muy baja densidad. Los diámetros de die fueron elegidos para ser los mismos que los diámetros de la taza de muestra.

Polvo con tamaños de partícula de menos de 100  $\mu\text{m}$  fueron presionados con carga de 10.4, 3.74 y 1.66 toneladas durante 60 segundos, respectivamente, diámetros de die de 25, 15 y 10 mm. El principal problema surge de la preparación de pastillas prensadas, pues consume mucho tiempo.

La exactitud y precisión del instrumento PEDXRF fueron evaluadas mediante calibración; calibración realizada como recomienda SPECTRO XEPOS III. La precisión estimada mediante la comparación de nuestros resultados con los valores dados de muestras SRM, mientras que, la precisión es la capacidad de una medición para reproducirse consistentemente. El desarrollo de PEDXRF también hace que sea posible lograr una alta exactitud y precisión de análisis [87].

$$\text{Factor de exactitud (\%)} = \frac{\text{Concentración Experimental}}{\text{SRM}_{\text{concentración}}} \times 100\% \quad (3.7)$$

$$\begin{aligned} \text{Precisión (\%)} &= 100 - \text{Coeficiente de Variación} \\ &= 100 - \frac{SD_{\text{Concentración experimental}}}{\text{Concentración Experimental}} \times 100\% \end{aligned} \quad (3.8)$$

### 3.3 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

La primer parte de este experimento es lograr la misma profundidad física en cada diámetros de la taza de muestra de 24, 15 y 10 mm con diferentes pesos; recomendación de SPECTRO XEPOS III el peso debe ser 4 g con el diámetro de copa de 24 mm de la muestra, sin embargo, el diámetro de la copa muestra de 24 mm con 4 g de peso es nuestro estándar para la profundidad física; datos que aparecen en la tabla 3-2. La segunda parte, fue lograr el mismo peso = 0,5 g con diferentes diámetros de copas de muestra 24, 15 y 10 mm y la profundidad física, que se muestra en la tabla 3-3. Tercera parte, la misma profundidad física (sin cera) con diferentes pesos y diámetros de die 25, 15 y 10 mm, y una pastilla de 25 mm con cera (GSS-1), que tenía diferente profundidad física, que se muestra en la tabla 3-4.

| Diámetro de la taza de muestra<br>mm | Masa<br>g | Profundidad física<br>mm |
|--------------------------------------|-----------|--------------------------|
| <b>GSS-1</b>                         |           |                          |
| 10                                   | 0.9730    | 7.4260 $\pm$ 0.0859      |
| 15                                   | 1.8275    | 7.2600 $\pm$ 0.2095      |
| 24                                   | 4.0002    | 7.3180 $\pm$ 0.2447      |
| <b>98a-Arcilla Plástica</b>          |           |                          |
| 10                                   | 0.9067    | 8.3460 $\pm$ 0.1356      |
| 15                                   | 1.7430    | 8.2660 $\pm$ 0.2277      |
| 24                                   | 4.0002    | 8.2780 $\pm$ 0.1132      |

Tabla 3- 2: Detalles de los diámetros de las tazas muestra; la misma profundidad física con diferentes pesos y diámetros para GSS-1 y 98a Arcilla Plástica.



| Diámetro de la taza de muestra<br>mm | Masa<br>g | Profundidad física<br>mm |
|--------------------------------------|-----------|--------------------------|
| <b>GSS-1</b>                         |           |                          |
| 10                                   | 0.5000    | $4.1460 \pm 0.1827$      |
| 15                                   | 0.5005    | $1.7780 \pm 0.0855$      |
| 24                                   | 0.5003    | $0.9520 \pm 0.1537$      |
| <b>98a Arcilla Plástica</b>          |           |                          |
| 10                                   | 0.5005    | $4.9620 \pm 0.1356$      |
| 15                                   | 0.4997    | $2.1120 \pm 0.1563$      |
| 24                                   | 0.4998    | $1.1620 \pm 0.2043$      |

Tabla 3- 3: Detalles de los diámetros de las tazas de muestra; el mismo peso  $t=0.5g$  con diferentes profundidades físicas y diámetros para GSS-1 y 98a Arcilla Plástica.

| Diámetro de Die<br>mm       | Masa<br>g                                          | Profundidad Física<br>mm | Densidad<br>$g/mm^3$                                |
|-----------------------------|----------------------------------------------------|--------------------------|-----------------------------------------------------|
| <b>GSS-1</b>                |                                                    |                          |                                                     |
| 10                          | 0.6514                                             | $3.9620 \pm 0.0110$      | $2.0934 \times 10^{-03} \pm 6.2256 \times 10^{-06}$ |
| 15                          | 1.4331                                             | $3.9060 \pm 0.0397$      | $2.0635 \times 10^{-03} \pm 2.1019 \times 10^{-05}$ |
| 25                          | 4.0001                                             | $3.9100 \pm 0.0283$      | $2.0548 \times 10^{-03} \pm 1.4867 \times 10^{-05}$ |
| 25 con cera                 | (GSS-1 = 3.9994g) +<br>(wax = 0.9005g) =<br>4.8999 | $5.3920 \pm 0.0192$      | $1.8272 \times 10^{-03} \pm 6.5192 \times 10^{-06}$ |
| <b>98a Arcilla Plástica</b> |                                                    |                          |                                                     |
| 10                          | 0.6520                                             | $4.1440 \pm 0.0055$      | $1.9755 \times 10^{-03} \pm 2.9905 \times 10^{-06}$ |
| 15                          | 1.4341                                             | $4.0120 \pm 0.0179$      | $2.0088 \times 10^{-03} \pm 8.9653 \times 10^{-06}$ |
| 25                          | 4.0004                                             | $4.0700 \pm 0.0255$      | $1.9707 \times 10^{-03} \pm 1.2352 \times 10^{-05}$ |

Tabla 3- 4: Detalles de los diámetros de Die; la misma profundidad física con diferentes pesos y diámetros, para GSS-1 y 98a Arcilla Plástica.

### 3.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La primera parte de este experimento se realiza para diferentes diámetros y pesos del receptáculo de muestra, con la misma profundidad física; profundidad física promedio, para GSS-1 =  $7.335 \pm 0.180mm$  y 98a-arcilla plástica =  $8.297 \pm 0.159mm$ ; la profundidad física depende de la composición elemental y la densidad de la SRM, diferentes diámetros de copas de muestra 24, 15 y 10 mm utilizado, los resultados que se muestran en la tabla 3-5 y la figura 3-4 (GSS-1) y 3-5 (98a arcilla plástica). En TURBOQUANT en polvo no es recomendable para los análisis de Na y Mg (manual del usuario SPECTRO XEPOS III), de hecho, las tablas realizadas mediante tres casos de la exactitud y precisión, (1) con Na y Mg, (2) sin Na y Mg (representan la parte más importante), (3) Na y Mg solo.

| Exactitud y<br>Presición    | Diámetro<br>de la Copa<br>de Muestra<br>mm | Elementos<br>con Na y Mg<br>% | Elementos<br>sin Na y Mg<br>% | Na y Mg solos<br>%   |
|-----------------------------|--------------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|----------------------|
| <b>GSS-1</b>                |                                            |                               |                               |                      |
| Exactitud                   | 10                                         | 91.11168 ± 2.10395            | 81.29817 ± 1.36651            | 115.64548 ± 3.94756  |
| Precisión                   | 10                                         | 99.57729                      | 99.74198                      | 99.16556             |
| Exactitud                   | 15                                         | 114.88789 ± 2.77719           | 104.70842 ± 1.98082           | 140.33656 ± 4.76811  |
| Precisión                   | 15                                         | 99.20714                      | 99.30636                      | 98.95911             |
| Exactitud                   | 24                                         | 119.52571 ± 4.08139           | 110.76992 ± 1.86118           | 141.4152 ± 9.63191   |
| Precisión                   | 24                                         | 98.58469                      | 99.78639                      | 95.58044             |
| <b>98a Arcilla Plástica</b> |                                            |                               |                               |                      |
| Exactitud                   | 10                                         | 95.19877 ± 7.32737            | 73.5079 ± 4.13494             | 203.65308 ± 23.28952 |
| Precisión                   | 10                                         | 97.57735                      | 99.00439                      | 90.44215             |
| Exactitud                   | 15                                         | 130.95009 ± 13.14779          | 95.52455 ± 5.60555            | 308.0778 ± 50.85900  |
| Precisión                   | 15                                         | 96.5562                       | 98.38319                      | 87.42126             |
| Exactitud                   | 24                                         | 147.12204 ± 9.64166           | 106.58059 ± 6.29499           | 349.8293 ± 26.37497  |
| Precisión                   | 24                                         | 97.81512                      | 98.71370                      | 93.32224             |

Tabla 3- 5: Comparación entre diferentes diámetros de las copas de muestra y pesos, con la misma profundidad física, para GSS-1 y 98a Arcilla Plástica.

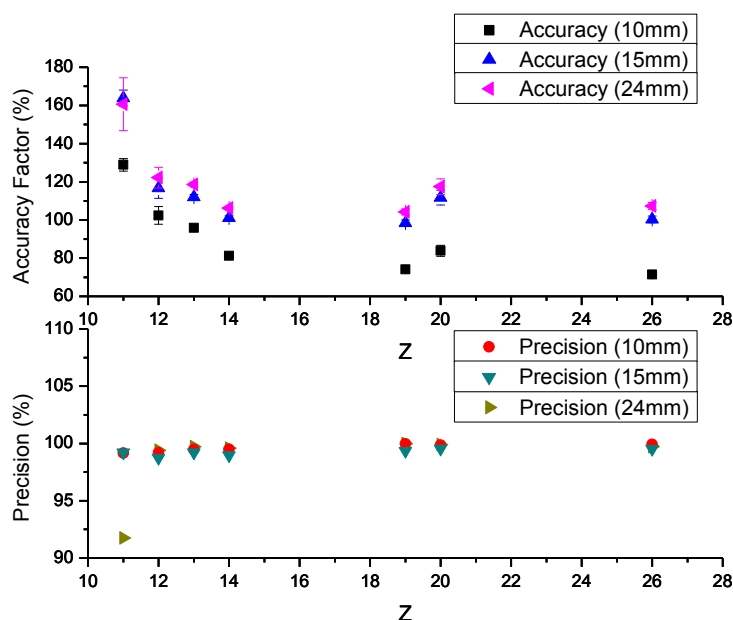


Figura 3- 4: Comparación entre el factor de exactitud y precision contra Z para cada elemento en GSS-1; la misma profundidad para diferentes diámetros en copas de muestra y pesos.

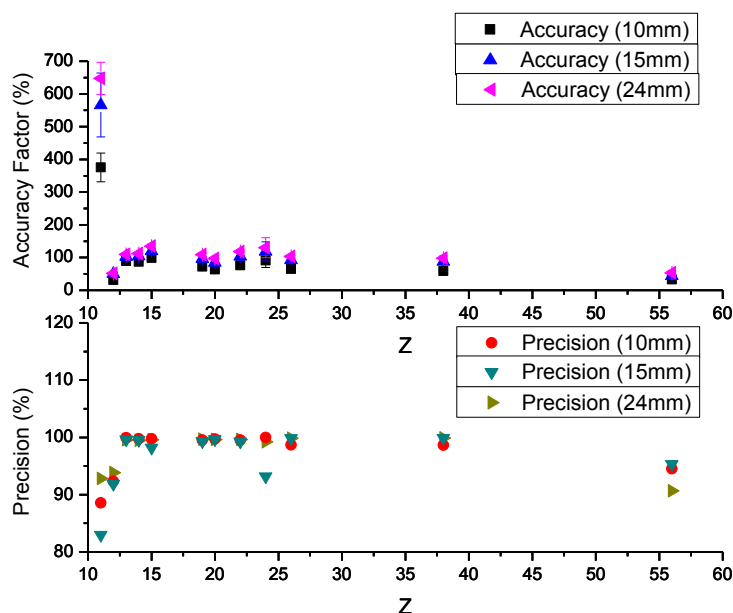


Figura 3- 5: Comparación entre el factor de exactitud y precision contra Z para cada elemento de Arcilla Plástica 98a; la misma profundidad para diferentes diámetros en copas de muestra y pesos.

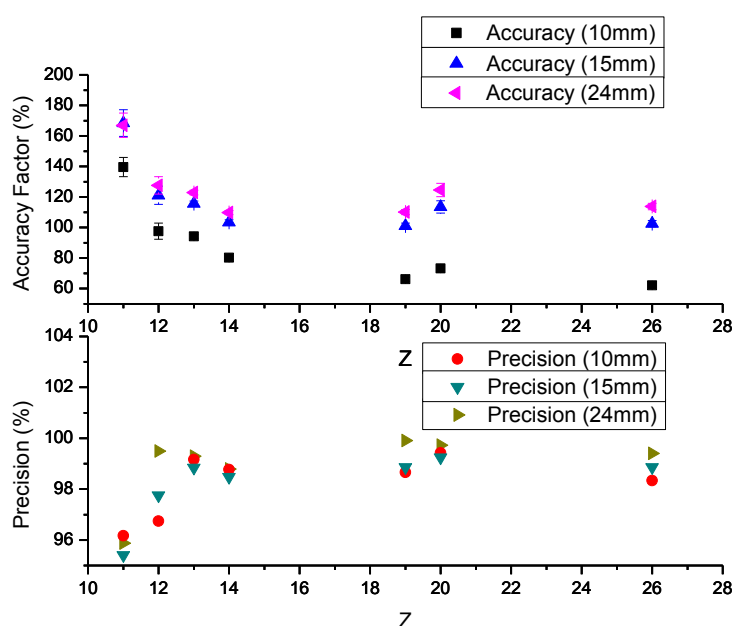
La precisión para GSS-1 y arcilla plástica 98a tuvieron pequeños sesgos para todos los diámetros de copa de muestra 24, 15 y 10 mm; la precisión para todas las muestras analizadas fue más grande que 98%, el factor de exactitud más alto fue para la copa de muestra de 15 mm; el factor de precisión para GSS-1 =  $104.70842 \pm 1.98082\%$  y 98a arcilla plástica =  $\pm 5.60555 \pm 95.52455\%$ ; en el otro lado, el peor factor de precisión fue de 10 mm, el factor de precisión para GSS-1 =  $81.29817 \pm 1.36651\%$  y 98a arcilla plástica =  $73.50794.13494 \pm \%$ ; la copa de muestra de 24 mm, que se recomienda desde el SPECTRO XEPOS III tiene factor de precisión para GSS-1 =  $110.76992 \pm 1.86118\%$  y 98a de arcilla plástica =  $106.58059 \pm 6.29499\%$ .

La segunda parte del experimento fue realizado para diferentes diámetros de copa de muestra (24, 15 y 10 mm) y profundidad física, con el mismo peso = 0,5 g; resultados mostrados en la tabla 3-6 y la figura 3-6 (GSS-1) y 3 - 7 (98a arcilla plástica).

| Exactitud y Precisión | Diámetro de la Copa de Muestra mm | Elementos con Na y Mg % | Elementos sin Na y Mg % | Na y Mg solos %         |
|-----------------------|-----------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| <b>GSS-1</b>          |                                   |                         |                         |                         |
| Exactitud             | 10                                | $87.58950 \pm 2.76139$  | $75.19241 \pm 1.53255$  | $118.58221 \pm 5.83350$ |
| Precisión             | 10                                | 98.18143                | 98.8697                 | 96.46076                |
| Exactitud             | 15                                | $117.95051 \pm 3.74543$ | $107.21626 \pm 2.29258$ | $144.78613 \pm 7.37755$ |

|                             |    |                      |                    |                      |
|-----------------------------|----|----------------------|--------------------|----------------------|
| Precisión                   | 15 | 98.20524             | 98.85694           | 96.57598             |
| Exactitud                   | 24 | 125.10590 ± 3.52127  | 116.2333 ± 2.19846 | 147.28741 ± 6.82828  |
| Precisión                   | 24 | 98.92624             | 99.42367           | 97.68265             |
| <b>98a Arcilla Plástica</b> |    |                      |                    |                      |
| Exactitud                   | 10 | 105.01850 ± 12.09792 | 74.39742 ± 4.47954 | 258.12394 ± 50.18983 |
| Precisión                   | 10 | 96.42473             | 97.89651           | 89.06582             |
| Exactitud                   | 15 | 125.42376 ± 10.05161 | 100.50906 ± 6.5547 | 249.99723 ± 27.53616 |
| Precisión                   | 15 | 95.94477             | 96.97111           | 90.81307             |
| Exactitud                   | 24 | 170.69121 ± 12.96539 | 121.5424 ± 7.09669 | 416.43528 ± 42.30890 |
| Precisión                   | 24 | 98.22477             | 99.18317           | 93.43276             |

**Tabla 3- 6: Comparación entre diferentes diámetros de tazas de muestra y profundidad física con el mismo peso = 0.5g; para GSS-1 y 98a ArcillaP lástica.**



**Figura 3- 6: Comparación entre el factor de exactitud y precisión contra Z para cada element en GSS-1; el mismo peso = 0.5g, con diferentes diámetros de taza de muestra y profundidad física.**

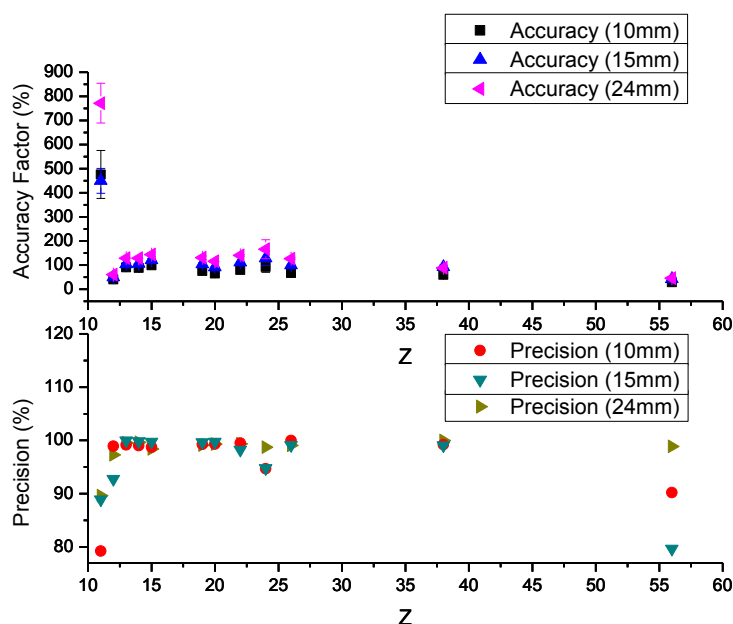


Figura 3- 7: Comparación entre el factor de exactitud y precision contra Z para cada element en Arcilla Plástica 98a; el mismo peso = 0.5g, con diferentes diámetros de taza de muestra y profundidad física.

La precisión para GSS-1 y arcilla plástica 98a se muestra con pequeños sesgos para todos los diámetros de copa de muestra 24, 15 y 10 mm, la precisión para todas las muestras analizadas  $\geq 97\%$ , la precisión más alta era la de la copa de muestra de 15 mm, el factor de precisión para GSS-1 =  $107.21626 \pm 2.29258\%$  y arcilla plástica 98a =  $100.50906 \pm 6.55470\%$ ; en el otro lado, la peor precisión fue de 10 mm, el factor de precisión para GSS-1 =  $75.19241 \pm 1.53255\%$  y 98a arcilla plástica =  $\pm 4.47954$  74.39742%; la copa de muestra de 24 mm tiene factor de precisión para GSS-1 =  $116.23330 \pm 2.19846\%$  y arcilla plástica 98a de =  $121.5424 \pm 7.09669\%$ . La taza de muestra de 15mm tenía la mejor exactitud y precisión, incluso con masas bajas en comparación con otras copas de muestra diámetros 24 y 10 mm.

La primera y la segunda parte del experimento muestran pequeños sesgos que se presentan en la muestra de diámetros de copa de 15 y 24 mm, y la copa de muestra de 10 mm ha tenido los mayores sesgos. Los detalles, en el caso de GSS-1,  $^{20}\text{Ca}$  no tenían una excelente precisión y, de hecho, la interferencia pudo suceder porque hay interferencia entre las líneas de energía  $k_{\alpha 1}$  de  $^{19}\text{K}$  ( $k_{\alpha 1}=3,313.8\text{ev}$ ) y  $^{20}\text{Ca}$  ( $k_{\alpha 1}=3,691.68\text{ev}$ ) o tal vez porque la interferencia entre la energía  $k_{\alpha 1}$  y líneas  $k_{\alpha 2}$  para  $^{20}\text{Ca}$  ( $k_{\alpha 1}=3,691.68\text{ev}$  and  $k_{\alpha 2}$ ). Por otro lado,  $^{11}\text{Na}$ ,  $^{12}\text{Mg}$  and  $^{13}\text{Al}$  y no tienen una buena precisión, y cualquier muestra que se componga de elementos de bajo número atómico debe hacerse como pastilla y no en polvo (manual del usuario SPECTRO XEPOS III).  $^{13}\text{Al}$  tiene una buena precisión, pero no excelente; todos modos, puede hacerse el análisis de  $^{13}\text{Al}$  en forma de polvo con una precisión aceptable. En el caso de la arcilla plástica 98a, esta consta de más elementos y matriz compleja que GSS-1.  $^{56}\text{Ba}$ ,  $^{24}\text{Cr}$  and  $^{15}\text{P}$  tienen una muy baja concentración en la

arcilla plástica 98a,  $^{56}\text{Ba} = 0.0269 \pm 0.0006\%$ ,  $^{24}\text{Cr} = 0.0205 \pm 0.0048\%$  y  $^{15}\text{P} = 0.0480 \pm 0.0025\%$ , además de que  $^{15}\text{P}$  tiene bajo número atómico, necesariamente se requiere en pastilla para dar una buena exactitud;  $^{22}\text{Ti}$  tampoco tuvo una buena precisión y eso porque hay interferencia entre la energía de la línea L  $^{22}\text{Ti}$  con la energía de la Línea K  $^{56}\text{Ba}$  [88].

La taza de muestra de 24 mm de diámetro, tiene diferente forma geométrica de 15 y 10 mm (figura 3-1). En detalles, el diámetro de la copa de 24 mm de la muestra tiene forma cilíndrica, mientras que el diámetro de la taza de la muestra de 15 y 10 mm son como células que se integran cónicamente formando cámaras dentro de la muestra que terminan en tubos cilíndricos que asemejan los típicos túneles vistos de lado. Las aberturas de las tazas de muestra se rigen por los diámetros de los tubos cilíndricos. Diferentes formas geométricas para los diámetros de la taza de muestra complican la relación entre el diámetro y la precisión, donde muy probablemente será el área activa para el detector SDD (10 mm<sup>2</sup>) concerniente a los rayos X recogidos, el área activa adecuada para el detector SDD debe ser proporcional al diámetro de la copa de muestra. Sin embargo, la copa de muestra de 10 mm tenía la menor precisión, debido a que el área activa del detector SSD tiene una baja intensidad de los rayos X fluorescentes alcanzados, mientras que, la muestra de 24 mm de diámetro de taza de muestra tiene mayor intensidad de la que debería ser.

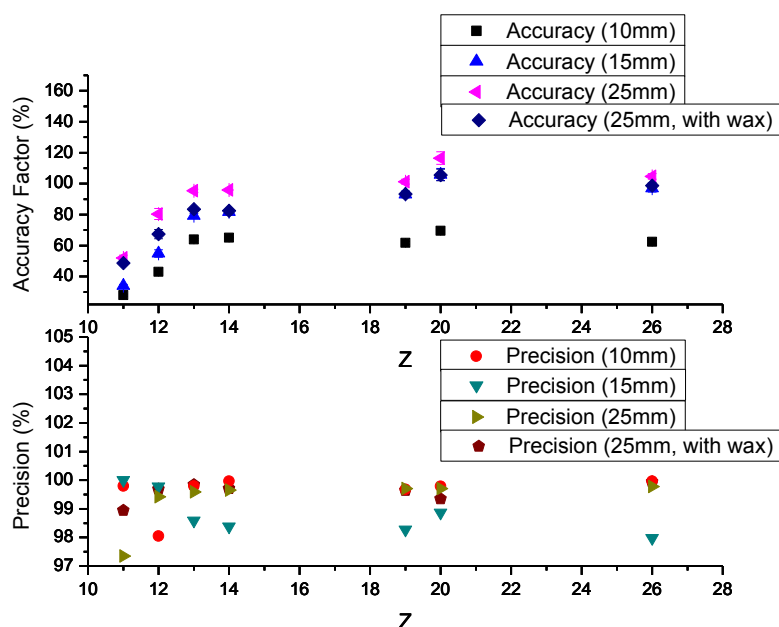
La reducción del peso mejora el factor de precisión para la matriz compleja y de alta densidad, como en la arcilla plástica 98a con un diámetro de copa de muestra de 15 mm, mientras que en la matriz sencilla la reducción de peso fue una desventaja, por lo que, la matriz, la densidad y el peso afecta el índice de exactitud y precisión.

La tercera parte del experimento se realizó para diferentes diámetros de matriz (25, 15 y 10 mm) y pesos, con la misma profundidad física; resultados que se muestran en la tabla 3-7 y la figura 3-8 (GSS-1) y 3-9 (Arcilla Plástica 98a).

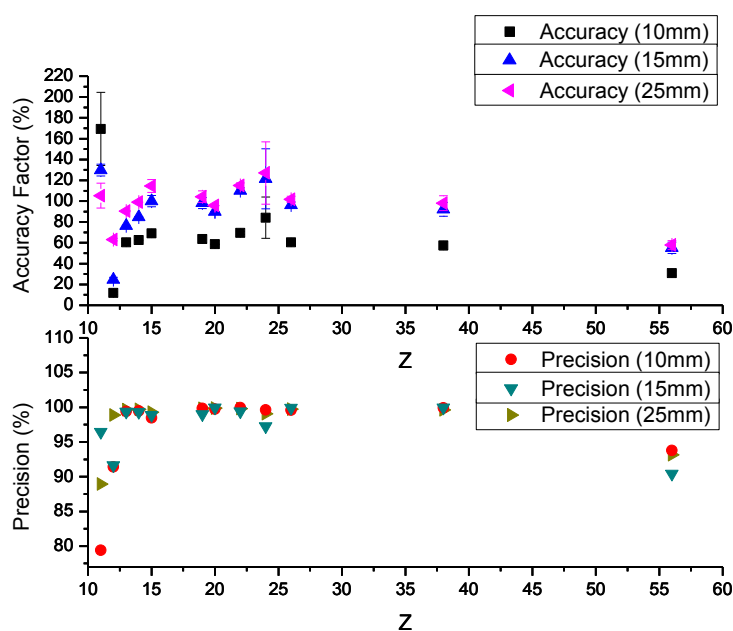
| Exactitud y Precisión       | Diámetro de Die mm | Elementos con Na y Mg % | Elementos sin Na y Mg % | Na y Mg solos %     |
|-----------------------------|--------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------|
| <b>GSS-1</b>                |                    |                         |                         |                     |
| Exactitud                   | 10                 | 56.23998 ± 1.14817      | 64.51997 ± 1.05552      | 35.54001 ± 1.37979  |
| Precisión                   | 10                 | 99.57593                | 99.83811                | 98.9205             |
| Exactitud                   | 15                 | 78.05716 ± 2.08558      | 91.46957 ± 2.26911      | 44.52615 ± 1.62677  |
| Precisión                   | 15                 | 98.83465                | 98.41331                | 99.88799            |
| Exactitud                   | 25 (sin cera)      | 92.29865 ± 2.05252      | 102.74908 ± 1.78452     | 66.17256 ± 2.72252  |
| Precisión                   | 25 (sin cera)      | 99.31264                | 99.6841                 | 98.38401            |
| Exactitud                   | 25 (con cera)      | 82.82649 ± 1.7643       | 92.70858 ± 1.61526      | 58.12127 ± 2.13691  |
| Precisión                   | 25 (con cera)      | 99.58669                | 99.69668                | 99.31171            |
| <b>98a Arcilla Plástica</b> |                    |                         |                         |                     |
| Exactitud                   | 10                 | 66.41925 ± 6.13009      | 61.59873 ± 3.73913      | 90.52182 ± 18.08489 |
| Precisión                   | 10                 | 96.71406                | 98.97351                | 85.41683            |
| Exactitud                   | 15                 | 89.93792 ± 5.49509      | 92.46742 ± 5.80974      | 77.2904 ± 3.92186   |

|           |    |                    |                     |                    |
|-----------|----|--------------------|---------------------|--------------------|
| Precisión | 15 | 97.62560           | 98.34462            | 94.03047           |
| Exactitud | 25 | 97.64976 ± 6.03950 | 100.35565 ± 5.92656 | 84.12034 ± 6.60420 |
| Precisión | 25 | 98.12361           | 98.96392            | 93.92209           |

**Tabla 3- 7: Comparación entre los diferentes diámetros de die y pesos, con la misma profundidad física para GSS-1 y 98a Arcilla Plástica.**



**Figura 3- 8: Comparación entre factores de exactitud y precisión ccontra Z para cada elemento en GSS-1; la misma profundidad física para diferentes diámetros de die y pesos.**



**Figura 3- 9: Comparación entre factores de exactitud y precisión ccontra Z para cada elemento en Arcilla Plástica 98a; la misma profundidad física para diferentes diámetros de die y pesos.**

La precisión de GSS-1 y arcilla plástica 98a mostraron pequeños sesgos para todos los diámetros de matriz 25, 15 y 10 mm, la precisión > 98%, el más alto índice de exactitud y precisión fue de 25 mm de diámetro de die, el índice de exactitud de GSS-1 sin cera =  $102.74908 \pm 1.78452\%$ , GSS-1 con cera =  $\pm 1.61526$  92.70858% y arcilla plástica 98a =  $100.35565 \pm 5.92656\%$ ; en el otro lado, el peor índice de exactitud de diámetro de die era de 10 mm; el factor de precisión para GSS-1 =  $64.51997 \pm 1.05552\%$  y arcilla plástica 98a =  $61.59873 \pm 3.73913\%$ , el diámetro de die 15 mm, tiene factor de precisión para GSS-1 =  $91.46957 \pm 2.26911\%$  y arcilla plástica 98a de =  $92.46742 \pm 5.80974\%$ . Na y Mg no tuvieron un buen índice de exactitud, de hecho, las líneas de bajo consumo para la radiación K alfa (Na y Mg), además de la auto-absorción y matriz compleja, todo eso afecta en el resultado final del factor de exactitud.

Se espera que las pastillas de polvo compacto produzcan un mejor índice de exactitud y precisión debido a sus formas definidas, densidades más altas y reducir los efectos de superficie. El diámetro de las pastillas de 25 mm sin cera ha dado el mejor factor de exactitud y precisión; detalles, exactitud y precisión de aproximadamente 100%; las pastillas con cera han dado menor factor de precisión que las pastillas sin cera; además, la baja densidad de la cera aumenta la dispersión, por lo tanto, los rayos x secundarios dispersos redujo el número de rayos x fluorescentes que llegan al detector, por lo tanto, los rayos x secundarios dispersados aumentaron el ruido, redujeron la eficiencia y la sensibilidad del detector.

El volumen de la muestra de la que se producen los rayos X se conoce como el volumen de producción de rayos x o el volumen de generación de rayos x, el tamaño y las dimensiones dependen de que la línea de rayos x esté excitada y la densidad del material. La distribución de las trayectorias de rayos x está contenida en el llamado volumen de interacción, la forma y dimensiones se ven fuertemente afectadas por las dos cosas: el número atómico de los elementos dentro de la muestra y la energía incidente de los rayos x.

El volumen de la pastilla afecta en la eficiencia absoluta; la eficiencia absoluta es producto de la eficiencia geométrica e intrínseca; la eficiencia geométrica es ángulo sólido que el detector presenta a la fuente, y la eficiencia intrínseca es la fracción de rayos X que golpean el volumen que se detecta en el detector. Sin embargo, el volumen de muestra aumenta o disminuye la intensidad de fluorescencia de rayos X, por lo tanto, la sensibilidad para el detector se afecta por el volumen de la muestra; aún más, el volumen de la muestra optimiza la recolección de los rayos-x. La distancia entre el volumen de la muestra y el volumen del detector determina la cantidad de radiación que golpeará el detector, la distancia se aumentó en un aumento del volumen de la muestra y, de hecho, el volumen de la muestra debe ser proporcional al volumen del detector.



Los efectos de la mejora de la absorción pueden ser positivos o negativos, sobre la base de su efecto sobre la intensidad de analito. En el efecto de absorción positiva, la matriz tiene un coeficiente de absorción menor, la intensidad es mayor de lo previsto y tal vez eso es lo que sucede en el caso de las tazas de la muestra (en polvo) para los elementos Na y Mg. En el efecto de absorción negativa, la matriz tiene un coeficiente de absorción mayor, la intensidad es menor de lo esperado, y tal vez es lo que sucede en el caso de las pastillas para los elementos Na y Mg. Por lo tanto, la profundidad física, la densidad, el volumen y la forma geométrica de la muestra pueden afectar el factor de exactitud y precisión.

### 3.5 CONCLUSIONES

Los PEDXRF tienen muy alto factor de exactitud y precisión; 25 mm de diámetro de die han dado el mejor factor de exactitud y precisión en comparación con los otros diámetros de la copa de muestra y die, y del receptáculo de la muestra; De hecho, las pastillas han dado un mejor factor de exactitud y precisión para los elementos de número atómico bajo, es decir, Na y mg. El diámetro del vaso de la muestra de 15 mm da el mejor factor de exactitud y precisión en comparación con otros diámetros de copa de muestra. En cualquier laboratorio, las copas de muestra de 10 mm de diámetro son esenciales para la cantidad de peso pequeña ( $<0.1$  g), en especial para las muestras ambientales y biológicas. En general, las copas de muestra (en polvo) son utilizadas más en los laboratorios que las pastillas; pastillas son un consumo de tiempo, además de que algunas muestras necesitan aglutinante, sin embargo, la taza de la muestra de 15 mm (en polvo) ha dado un mejor índice de exactitud que la pastilla con cera.

El diámetro de la taza de muestra de 15 mm, tendrá menos peso que los diámetros de las pastillas de 25 mm, el diámetro de copa de muestra de 15 mm sólo tiene 1,4 g, y un bajo peso en comparación con 4g; aún más, el peso se puede reducir hasta 0,5 g con un muy buen factor de exactitud y precisión. Además, el polvo es más fácil de preparar y no requiere de ninguna habilidades.

## **CAPÍTULO 4: CARACTERIZACIÓN Y CONCENTRACIÓN DE ELEMENTOS TRAZA DEL SUELO RIZOSFÉRICO, LOS SEDIMENTOS Y EL AGUA EN Y / O CERCA DEL RESPIRADERO DE LAS FUMAROLAS Y AGUAS TERMALES EN LOS AZUFRES**

### **4.1 INTRODUCCIÓN**

La región de Los Azufres es uno de los varios centros volcánicos silícicos del Pleistoceno con sistemas geotérmicos activos en el Eje Neovolcánico Transversal Mexicano. El campo geotérmico, que se encuentra a 220 km al Noroeste de la ciudad de México y a 80 km al Este de la capital del estado de Michoacán, Morelia; y que ha sido utilizado para la generación de energía geotérmica y el turismo. Los Azufres representa el segundo campo geotérmico más importante en México. Un gran número de características hidrotermales naturales como aguas termales y fumarolas existe en la zona montañosa de Los Azufres.

El agua geotérmica puede ser ampliamente definida como las aguas subterráneas que poseen una temperatura apreciablemente superior a la de la temperatura media anual del aire local. En general, el agua geotérmica de un área contiene grandes concentraciones de minerales disueltos, tales como sodio, calcio, sulfato, cloruro, sílice, etc. más altos que la del agua subterránea local no geotérmica. El agua se calienta a medida que desciende, posiblemente a lo largo de las zonas de falla que recubren la cámara magmática, hasta que absorbe el calor suficiente para ser más ligero que el agua suprayacente; es entonces cuando el agua caliente sube a la superficie [89, 90 y 91].

Los fluidos geotérmicos que se elevan a la superficie incluyen agua caliente y vapor con solutos y gases disueltos. Ellos pueden ser descargados en las aguas termales, fumarolas y suelo. La fuente de los constituyentes disueltos en los fluidos geotérmicos es la roca con la que el agua subterránea profunda ha reaccionado y causa los constituyentes presentes en el agua. En el caso de los sistemas geotérmicos volcánicos, la fuente de calor magmático también puede suministrar componentes químicos a los fluidos geotérmicos a través de su desgasificación [89, 90 y 91].

Las aguas termales se crean cuando el agua penetra la superficie de la tierra y se encuentra con una fuente de calor geotérmica. El ascenso subsiguiente del agua calentada a la superficie resulta en aguas termales con temperaturas en el agua inusualmente altas y con una alta concentración de minerales disueltos. Los sedimentos originados por aguas termales: a menudo éstas están rodeadas de yacimientos minerales extraños y coloridos. La deposición de los minerales disueltos es ayudada por la evaporación del agua, que por lo general es muchos grados más caliente que la escorrentía o flujo de agua subterránea sin

calefacción [92]. La fumarola se encuentra un orificio de ventilación en la superficie de la Tierra desde donde escapa humo caliente y gases. Las fumarolas se encuentran en o cerca de volcanes, especialmente en las zonas donde la actividad volcánica se encuentra en sus últimas etapas [93 y 94].

Manantiales y fumarolas naturalmente descargan vapores y gases calientes, mezclados con minerales disueltos, en el aire y el suelo. Por causa del viento, estos minerales disueltos se extenderán, al lado de las fugas de los gases y el agua, en el suelo circundante; de algún modo, los metales fueron transferidos de las aguas termales y fumarolas al suelo. Ésta transferencia de metal podría provenir de fuentes naturales, como áreas geotérmicas y volcánicas, lo que podría afectar el pH del medio ambiente y podría incrementar la absorción de los elementos en el suelo.

Las plantas crecen en la capa superior delgada de la corteza de la Tierra conocida como la corteza. El suelo se forma sobre tiempos muy largos de roca ígnea o sedimentaria, ceniza volcánica, arena o turba. Con la excepción de la turba, estos son todos los minerales de silicato, por lo que el suelo está compuesto principalmente de silicatos y material orgánico conocido como humus. Las plantas usan este suelo para el anclaje y como una fuente de nutrientes y de agua [95].

Las plantas necesitan agua, dióxido de carbono y una serie de trazas de minerales conocidos como nutrientes para crecer, las plantas absorben elementos esenciales desde el suelo a través de sus raíces y desde el aire (que consiste principalmente de nitrógeno y oxígeno) a través de sus hojas [96]. El nutriente disponible en un suelo dado depende en última instancia de la roca de la que se hizo la tierra [95].

Las adaptaciones son características especiales que permiten que una planta o animal vivan en un lugar o hábitat particular. Estas adaptaciones pueden hacer que sea muy difícil para la planta sobrevivir en un lugar diferente [97]. La planta, en generaciones sucesivas (normalmente a través de la selección natural) ha desarrollado cambios en su morfología física para que pueda sobrevivir en un ambiente hostil o cambiante [98]. Todas las plantas tienen una manera de adaptarse a su entorno. Sin embargo, un tipo de la adaptación es la capacidad absorber metales pesados y raros y de vivir con esos mismos dentro de la biomasa vegetal.

Espectrometría de Emisión Atómica de Plasma de Acoplamiento Inductivo- (ICP-AES) es una de las técnicas más comunes para el análisis elemental. ICP-AES es una poderosa herramienta para la rápida identificación y cuantificación de los metales en una muestra [99] y, de hecho, es una técnica analítica ampliamente utilizada para la determinación de elementos traza [49]; su alta especificidad, la capacidad multi-elemento y una buena detección de límites resultan en el uso de la técnica en una gran variedad de

aplicaciones [100]. En general, la principal ventaja de ICP-AES para el análisis de muestras de líquidos es única y versátil [101].

ICP-AES es una de las herramientas analíticas más potentes y populares para la determinación de elementos traza en una gran variedad de tipos de muestras. La técnica se basa en la emisión espontánea de fotones desde los átomos e iones que han sido excitados en una descarga de RF. Las muestras líquidas y el gas pueden ser inyectados directamente en el instrumento, mientras que las muestras sólidas requieren extracción o ácido digestión de modo que los analitos estarán presentes en una solución. La solución de muestra se convierte en un aerosol y se dirige en el canal central del plasma. En su esencia el plasma de acoplamiento inductivo (ICP) sostiene una temperatura de aproximadamente 10.000 K, por lo que el aerosol se vaporiza rápidamente. Los elementos del analito se liberan en forma de átomos libres en estado gaseoso. Así, la excitación colisional dentro del plasma imparte energía adicional a los átomos, promoviendo estados excitados a los mismos. Energía suficiente es a menudo disponible para convertir los átomos a los iones y, posteriormente, la promoción de los iones a estados excitados. Las especies en el estado excitado, tanto atómica e iónica, pueden entonces relajarse al estado fundamental a través de la emisión de un fotón. Estos fotones tienen energías características que están determinadas por la estructura de nivel de energía cuantificada para los átomos o iones. Por lo tanto la longitud de onda de los fotones se puede utilizar para identificar los elementos de los que se originaron. El número total de fotones es directamente proporcional a la concentración del elemento originario de la muestra [102].

La instrumentación asociada con un sistema de ICP-AES es relativamente simple. Una porción de los fotones emitidos por el PCI se recogió con una lente o un espejo cóncavo. Este enfoque óptico forma una imagen de la ICP en la abertura de entrada de un dispositivo de selección de longitud de onda tal como un monocromador. La longitud de onda particular que sale del monocromador se convierte en una señal eléctrica por un fotodetector. La señal es amplificada y procesada por el detector electrónico, a continuación, se muestra y se almacena por un ordenador personal [102].

Los EDXRF tienen el beneficio de (en la mayoría de los casos) fácil preparación de la muestra y el análisis de múltiples elementos. Cuando se utiliza un haz de polarización EDXRF equipado con objetivos secundarios, beneficios adicionales en relación con el fondo bajo y mejor excitación de los elementos pesados se obtienen [103].

Los PEDXRF no son destructivos, cuentan con un rápido rendimiento y sencilla preparación de muestras, una amplia gama de elementos desde Na a U se caracterizan simultáneamente, y la sensiblemente. Posibles desventajas están relacionadas con las interferencias espectrales de ciertos elementos y la sensibilidad más pobre de los elementos más ligeros, con los componentes peligrosos de número atómico inferior a Na

tales como el Be no son detectados. Sin embargo, mejoras recientes basada en el campo en EDXRF han superado potencialmente muchos de estos problemas. Detectores de alta resolución de Si(Li) han mejorado dramáticamente la resolución de energía, reduciendo de ese modo las interferencias espectrales. El desarrollo de los ordenadores personales con alta velocidad y memoria también ha permitido algoritmos de los parámetros fundamentales para llevar a cabo rápidamente el uso de múltiples normas, lo que resulta en una rápida y más precisa estandarización y análisis de componentes múltiples, matrices complejas sobre los métodos empíricos estándar [104].

La Espectrometría PEDXRF es un método popular para la determinación directa de los elementos mayores y menores en muestras sólidas mineralógicas y del medio ambiente. Con el uso de esta técnica, la cuantificación directa de especies metálicas realizadas en materiales sólidos es posible, y por lo tanto, la etapa de elución se puede evitar, lo que lleva a una reducción de la manipulación de la muestra [105].

El propósito del estudio fue determinar la composición química de elementos traza del suelo, sedimentos y agua, y correlacionar los datos con las plantas (musgos y helechos) en el próximo capítulo; Si hay elementos pesados y raros en el suelo, sedimentos y agua, las plantas podrían contener y acumular estos diferentes elementos en altas concentraciones en su biomasa.

## **4.2 MATERIALES Y MÉTODOS**

La precisión y la exactitud comienzan con la recogida de muestras y continúan a través de cada etapa del análisis hasta que se hizo informe de los datos químicos.

### **4.2.1 INSTRUMENTACIÓN**

Dos técnicas diferentes fueron utilizadas para rastrear análisis de la composición elemental de la tierra y muestras de sedimento; mientras que el análisis de las muestras de agua de aguas termales y del Lago Laguna Verde fueron hechas por una técnica. La primera técnica, los PEDXRF se utilizaron para la concentración total de análisis de muestras de suelo y sedimento. La segunda técnica, ICP-AES, se usó para el análisis adsorbido (elementos móviles) de la composición de las muestras de suelos y sedimentos, y la concentración total de elementos traza en muestras líquidas.

ICP-AES (o ICP-OES) es una técnica de solución multi-elemento rápida con un rango lineal dinámico y límites de detección moderado-bajos. El instrumento Espectrómetro Optima 8000 de ICP-OES (PerkinElmer, Inc., Waltham, EE.UU.) utiliza una fuente de ICP para disociar la muestra en sus átomos constituyentes o iones, excitándolos a un nivel en el

que emiten luz de una longitud de onda característica; mediciones de ICP-AES hechas en la Universidad de Texas, Texas, en EE.UU.

Los PEDXRF pueden considerarse convenientes para muestras de suelo y sedimento; exactitud y precisión se miden y se describen en el capítulo 3; SPECTRO XEPOS III (Spectro Analytical Systems GmbH, Kleve, Alemania) usado para el análisis de la composición elemental de traza; los análisis PEDXRF fueron llevados a cabo en la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo en Morelia, Michoacán, México.

#### 4.2.2 LOS SITIOS DE MUESTREO

Cuatro sitios ubicados dentro del campo geotérmico de Los Azufres, fueron seleccionados para tomar muestras para determinar la composición y concentración de los elementos traza. En este trabajo el interés principal fueron las zonas geotérmicas que contienen fumarolas. Los sitios elegidos no se han utilizado ni modificado por actividad humana. Los lugares elegidos son Nopalito I (figura 4-2), Cumbres I (figura 4-3), Cumbres II (figura 4-4) y Laguna Verde (figura 4-5), la ubicación de los sitios en el mapa se muestra en la figura 4-6, y el mapa de coordenadas de las muestras se midieron con coordenadas Mercator (XY) mientras que Z es la altitud, que se resumen en la Tabla 4-1. Las muestras de suelo (7 muestras), el sedimento (6 muestras) y agua (5 muestras) fueron recogidas en Diciembre de 2010 y 2011, mientras que una muestra de agua fue tomada en abril de 2010. El conjunto de muestras recogidas suman la cantidad total de 18.



Figura 4- 1: Nopalito I.





Figura 4- 2: Cumbres I.



Figura 4- 3: Cumbres II.



Figura 4- 4: Laguna Verde.

| Nombre del Sitio | X<br>m    | Y<br>m     | Z<br>m  |
|------------------|-----------|------------|---------|
| Cumbres I        | 323752.32 | 2192397.78 | 2788.84 |
| Cumbres II       | 324050    | 2192150    | 2788.84 |
| Nopalito I       | 322822.09 | 2192518.97 | 2756.94 |
| Laguna Verde     | 327000    | 2193150    | 2820.42 |

Tabla 4- 1: Mapa de coordenadas.

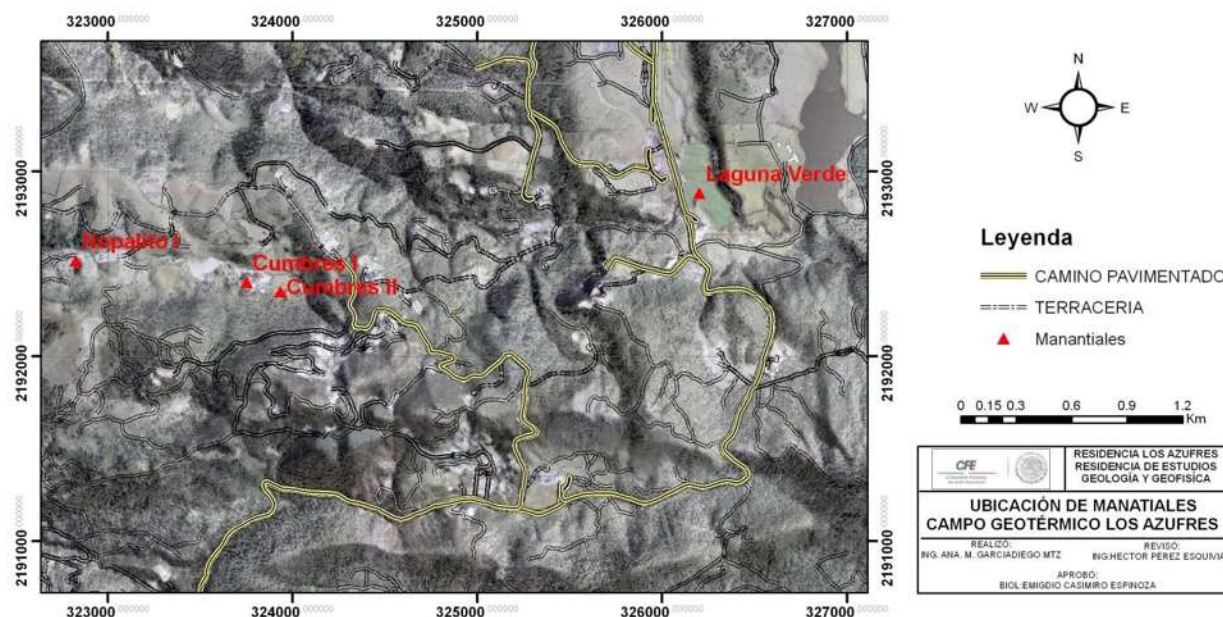


Figura 4- 5: Locación de los cuatro sitios en Los Azufres.

### 4.2.3 PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Las muestras de suelo fueron recogidas con pala, las muestras de suelo rizosférico fueron recogidos debajo y entre las raíces de las plantas. Nombre de la muestra de suelo, tipo de planta y el nombre de la planta se resume en la tabla 4-2, mientras que, sedimentos y muestras de agua se llevaron a cabo utilizando un agarrar sampler; suelos, sedimentos y muestras de agua almacenados en recipientes de polietileno limpios, etiquetados y sellados.



| Nombre de la Muestra | Tipo de Planta | Nombre de la Planta                                                       | Nota                         |
|----------------------|----------------|---------------------------------------------------------------------------|------------------------------|
| Tierra 1             | Helecho        | Pityrograma calomelanos PTERIDACEA                                        | Fumarola de ventilación      |
| Tierra 2             | Helecho        | Lycopodium clavatum L. LYCOPODIACEA                                       | ~50m lejos de aguas termales |
| Tierra 3             | Musgo          | Atractylocarpus stenocarpus (Wilson) R.H. Zander<br>DICRANACEAE           | Fumarola de ventilación      |
|                      |                | Pylaisidelpha tenuirostris (Bruch & Schimp. ex Sull.) W.R. Buck HYPNACEAE |                              |
|                      |                | Symblepharis vaginata (Hook. ex Harv.) Wijk & Margad. DICRANACEAE         |                              |
| Tierra 4             | Musgo          | Pilopogon guadalupensis (Brid.) J.-P. Frahm<br>DICRANACEAE                | ~70m lejos de aguas termales |
|                      |                | Campylopus flexuosus (Hedw.) Brid.<br>DICRANACEAE                         |                              |
|                      |                | Campylopus arctocarpus (Hornsch.) Mitt.<br>DICRANACEAE                    |                              |
| Tierra 5             | Musgo          | Pilopogon guadalupensis (Brid.) J.-P. Frahm<br>DICRANACEAE                | ~70m lejos de aguas termales |
| Tierra 6             |                | No Planta                                                                 | Área de Roca                 |
| Tierra 7             | Helecho        | Lycopodium clavatum L. LYCOPODIACEA                                       | ~50m lejos de aguas termales |

Tabla 4- 2: Nombres de las plantas de cada muestra de tierra de la rizósfera.

#### 4.2.3.1 PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA SUELO DE LA RIZOSFERA Y SEDIMENTOS

Mezcla de agua-sedimento recogida de aguas termales: procedimiento separado realizado dejando la mezcla de agua-sedimento durante 24 horas sin movimiento, y el sedimento y el agua fueron separados por decantación del sobrenadante; muestras de sedimentos y suelo limpiadas de materia extraña, es decir, piedras, insectos, partes de la raíz, etc., y se secó en el horno a 60 OC durante 4-10 días.

El tamaño de las partículas o la heterogeneidad pueden causar un problema grave en el análisis de PEDXRF, antes del análisis químico, las muestras deben ser homogeneizadas. Las muestras de suelo y sedimentos se homogeneizaron por trituración de las muestras por la fresadora (RETSCH, molino mezclador MM 400, Alemania) con frecuencia = 25 Hz, para 10-20min mediante el uso de recipientes de molienda de 50 ml y pelotas hechas de acero inoxidable con un diámetro de 10 mm; de hecho, en cada recipiente de molienda había 14 pelotas. Las muestras molidas secas se tamizaron a través de una malla de 140 (tamaño de partícula <105 micras); todas las muestras pasaron 24 horas en el horno a 60 OC antes de el análisis en PEDXRF, para asegurar no humedad.

Las muestras se prepararon para PEDXRF en forma de pastilla prensada de polvo con un diámetro interno de 25 mm (figura 4-7 y 4-8), mediante el uso de una prensa hidráulica que funciona a una carga de 10,4 toneladas (TRUPER, PREH-20, México). La pastilla de polvo compactado sin un aglutinante evita la dilución de la muestra y, por lo

tanto, aumenta la sensibilidad y reduce los límites de detección para los elementos traza [103], sin embargo, la precisión es menor en la muestra de polvo que en la pastilla prensada [77], la mayoría de las muestras de los suelos y sedimentos fueron hechas sin aglutinante; una muestra fue realizada como pastilla con aglutinante (muestras 4g + 0,9 g de cera), el procedimiento se realiza como es recomendado por el Espectrómetro SPECTRO XEPOS III (manual del usuario SPECTERO XEPOS III); la densidad fue calculada para las pastillas de el suelo y los sedimentos; de hecho, el peso y la profundidad medida, los detalles sobre el lugar, fecha, densidad, etc. se ilustran en la tabla 4-3 y 4-4. Todas las pastillas fueron hechas con la misma presión (fuerza / área) =  $207.2 \times 10^6 \text{ N/m}^2$ . Los sedimentos se disponen sobre una bandeja rotativa de 12 posiciones, que a continuación se inserta en la cámara de medición del analizador de XEPOS SPECTRO III.

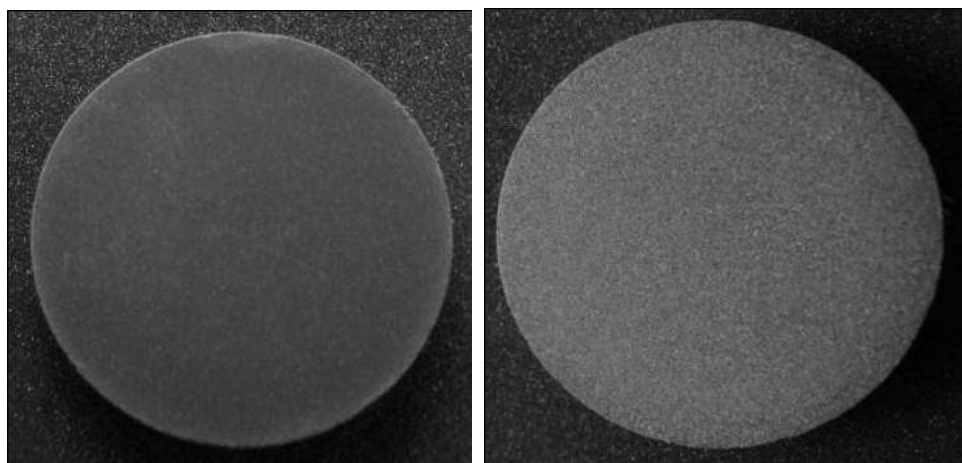


Figura 4- 6: Pastillas de las muestras de sedimentos 5 y 6.

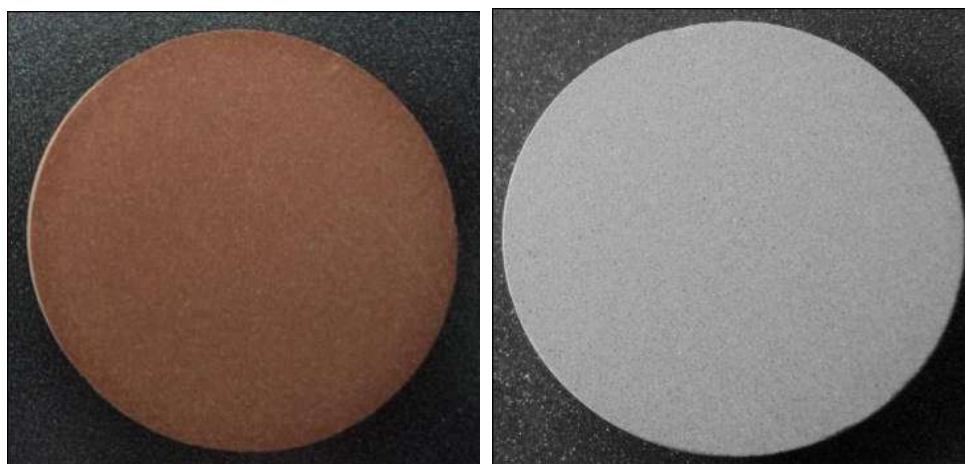


Figura 4- 7: Pastillas de las muestras de tierra 6 y 7.

| Nombre de la Muestra | Sitio de Muestreo | Fecha de Muestreo |
|----------------------|-------------------|-------------------|
| Tierra 1             | Nopalito I        | 1/12/2011         |
| Tierra 2             | Cumbres II        | 1/12/2011         |
| Tierra 3             | Nopalito I        | 1/12/2011         |
| Tierra 4             | Cumbres II        | 1/12/2011         |
| Tierra 5             | Cumbres II        | 1/12/2011         |
| Tierra 6             | Nopalito I        | 3/12/2010         |
| Tierra 7             | Cumbres II        | 3/12/2010         |
| Sedimento 1          | Nopalito I        | 1/12/2011         |
| Sedimento 2          | Cumbres I         | 1/12/2011         |
| Sedimento 3          | Nopalito I        | 3/12/2010         |
| Sedimento 4          | Nopalito I        | 3/12/2010         |
| Sedimento 5          | Cumbres II        | 3/12/2010         |
| Sedimento 6          | Cumbres I         | 3/12/2010         |

Tabla 4- 3: Sitios y fechas de muestreo para cada muestra de tierra y sedimento.

| Nombre de la Muestra | Peso de la muestra g                              | Profundidad Física mm              | Densidad g/mm <sup>3</sup>                        |
|----------------------|---------------------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------------------|
| Tierra 1             | 4.0003                                            | $4.2480 \pm 8.3666 \times 10^{-3}$ | $1.8474 \times 10^{-3} \pm 3.6461 \times 10^{-6}$ |
| Tierra 2             | (soil sample= 4.0002g) + (wax = 0.9001g) = 4.9003 | $6.0560 \pm 1.1402 \times 10^{-2}$ | $1.6188 \times 10^{-3} \pm 3.0514 \times 10^{-6}$ |
| Tierra 3             | 3.9995                                            | $4.1660 \pm 1.9494 \times 10^{-2}$ | $1.8914 \times 10^{-3} \pm 8.8514 \times 10^{-6}$ |
| Tierra 4             | 4.0006                                            | $4.1760 \pm 2.9665 \times 10^{-2}$ | $1.8897 \times 10^{-3} \pm 1.3425 \times 10^{-5}$ |
| Tierra 5             | 4.0007                                            | $5.4920 \pm 3.1145 \times 10^{-2}$ | $1.4313 \times 10^{-3} \pm 8.1195 \times 10^{-6}$ |
| Tierra 6             | 4.0008                                            | $3.9600 \pm 2.4495 \times 10^{-2}$ | $2.0081 \times 10^{-3} \pm 1.2424 \times 10^{-5}$ |
| Tierra 7             | 4.0006                                            | $4.8960 \pm 8.9443 \times 10^{-3}$ | $1.6202 \times 10^{-3} \pm 2.9660 \times 10^{-6}$ |
| Sedimento 1          | 4.0008                                            | $3.8300 \pm 2.9155 \times 10^{-2}$ | $2.0589 \times 10^{-3} \pm 1.5675 \times 10^{-5}$ |
| Sedimento 2          | 4.0007                                            | $4.2840 \pm 1.5166 \times 10^{-2}$ | $2.7060 \times 10^{-3} \pm 2.4217 \times 10^{-4}$ |
| Sedimento 3          | 4.0012                                            | $3.8100 \pm 5.2440 \times 10^{-2}$ | $2.0837 \times 10^{-3} \pm 2.8682 \times 10^{-5}$ |
| Sedimento 4          | 4.0005                                            | $3.8340 \pm 2.4083 \times 10^{-2}$ | $2.0599 \times 10^{-3} \pm 1.2940 \times 10^{-5}$ |
| Sedimento 5          | 4.0013                                            | $4.0960 \pm 3.5777 \times 10^{-2}$ | $1.9312 \times 10^{-3} \pm 1.6872 \times 10^{-5}$ |
| Sedimento 6          | 4.0000                                            | $4.3700 \pm 1.8708 \times 10^{-2}$ | $1.8053 \times 10^{-3} \pm 7.7304 \times 10^{-6}$ |

Tabla 4- 4: Peso, densidad y profundidad física para cada pastilla de suelo y sedimento.

Las muestras fueron enviadas a la Universidad de Texas, E.E.U.U., en forma de polvo seco; las muestras fueron analizadas usando ICP-AES. El método de digestión seguido fue USEPA: método 3050B. Los métodos de digestión significan tiempo consumido y peligro potencial en tratamientos ácidos para la disolución de las muestras.

### 4.2.3.2 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA DE AGUA

Las muestras de agua se centrifugan mediante una centrífuga de laboratorio (Solbat J-40, Puebla, México), durante 10 min, rpm 4500, las muestras de agua centrifugada fue filtrada mediante papel de filtro, las muestras son guardadas en la nevera, listas para usarse, las muestras de agua han sido analizadas por ICP-AES en la Universidad de Texas, EE.UU.. Una gota de HNO<sub>3</sub> concentrado se añadió a cada muestra de agua para asegurar que todos los metales se disolvieran. La Tabla 4-5 muestra la fecha del muestreo y el nombre del sitio.

| Nombre de la Muestra | Nombre del Sitio | Fecha de Muestreo |
|----------------------|------------------|-------------------|
| 1A                   | Cumbres I        | 3/12/2010         |
| 2A                   | Nopalito I       | 3/12/2010         |
| 3A                   | Cumbres II       | 3/12/2010         |
| 4A                   | Cumbres II       | 3/12/2010         |
| 5A                   | Laguna Verde     | 15/4/10           |

Tabla 4- 5: Locación y fecha de muestreo para agua/sedimento/tierra

## 4.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los elementos traza químicos que se encuentran en las muestras de suelo mediante el uso de PEDXRF son: Na, Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, As, Se, Br, Rb, Sr, Y, Zr, Nb, Mo, Ag, Cd, Sn, Sb, Te, I, Ba, La, Ce, Pr, Nd, Hf, Ta, W, Hg, Pb, Th y U; mientras que, en las muestras de sedimento encontrado: Na, Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, As, Se, Br, Rb, Sr, Y, Zr, Nb, Mo, Sn, Sb, Ba, La, Ce, Nd, Hf, W, Hg, Pb, Th y U. El número de elementos que se encuentran en muestras del suelo es 46; y en muestras de sedimentos de 40 elementos, los elementos traza detectados en muestras de suelo y que no se detectó en las muestras de sedimento son: Ag, Cd, Te, I, Pr y Ta. Sin embargo, en las muestras de suelo se encontraron los elementos traza en algo de mayor concentración ya que el suelo se ha enriquecido de las aguas termales y la descomposición natural de las plantas y los animales. Detalles de la composición de elementos traza con comparación entre diferentes ubicaciones para las muestras de suelo se muestran en las figuras 4-9 a 4-17, y para las muestras de sedimento en las figuras 4-18 a 4-25, y los elementos dispuestos de acuerdo con las concentraciones de elementos. Como se ha dicho en el capítulo tres, Na y Mg han tenido gran error en el análisis hecho mediante PEDXRF, por lo tanto, los resultados de Na y Mg no están en los gráficos.

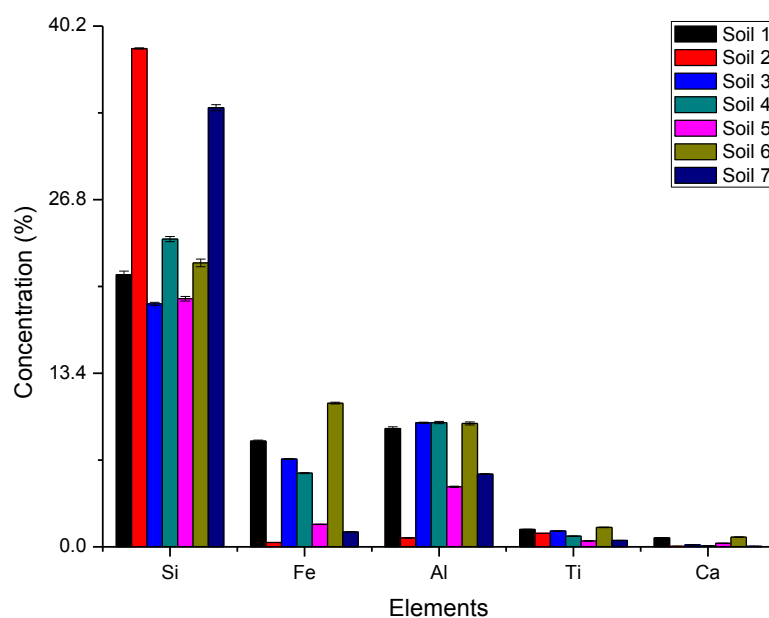


Figura 4- 8: Comparación de elementos traza de las muestras de suelo de diferentes locaciones con los mismos elementos utilizando PEDXRF, y elementos Si, Fe, Al, Ti y Ga.

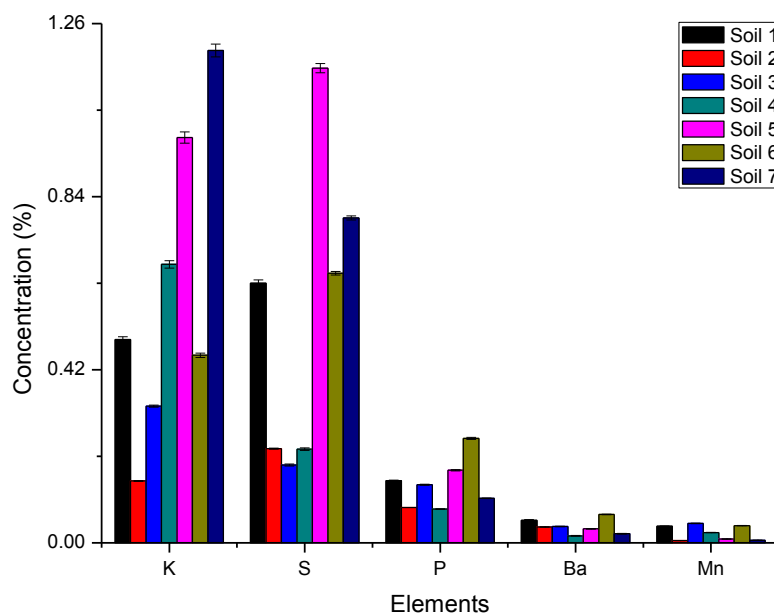


Figura 4- 9: Comparación de elementos traza para de las muestras de suelo de diferentes locaciones con los mismos elementos utilizando PEDXRF y los elementos K, S, P, Ba, Mn.

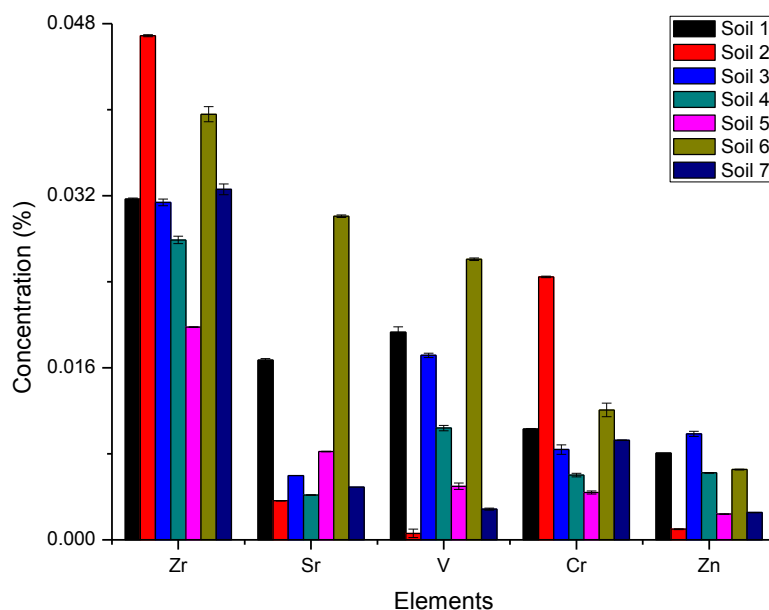


Figura 4- 10: Comparación de elementos traza para de las muestras de suelo de diferentes locaciones con los mismos elementos utilizando PEDXRF y los elementos Zr, Sr, V, Cr y Zn.

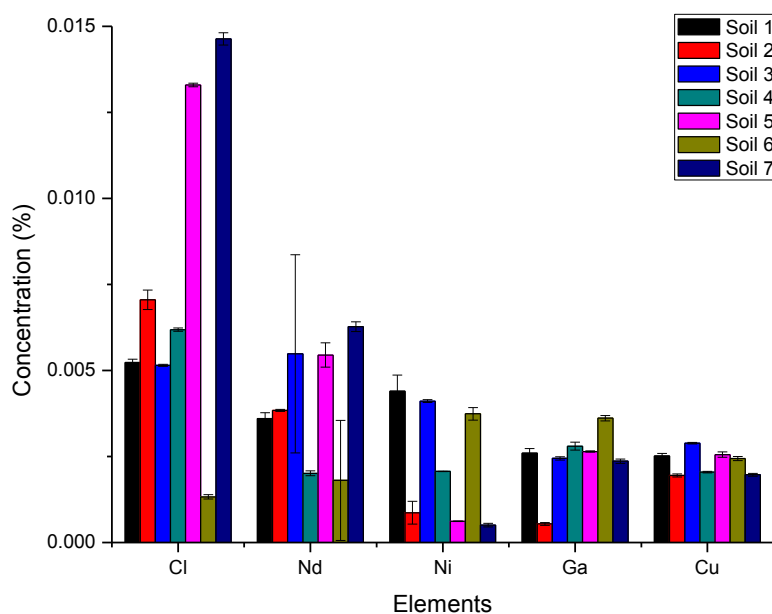


Figura 4- 11: Comparación de elementos traza para muestras de suelo de diferentes locaciones con los mismos elementos utilizando PEDXRF y elementos Cl, Nd, Ni, Ga y Cu.

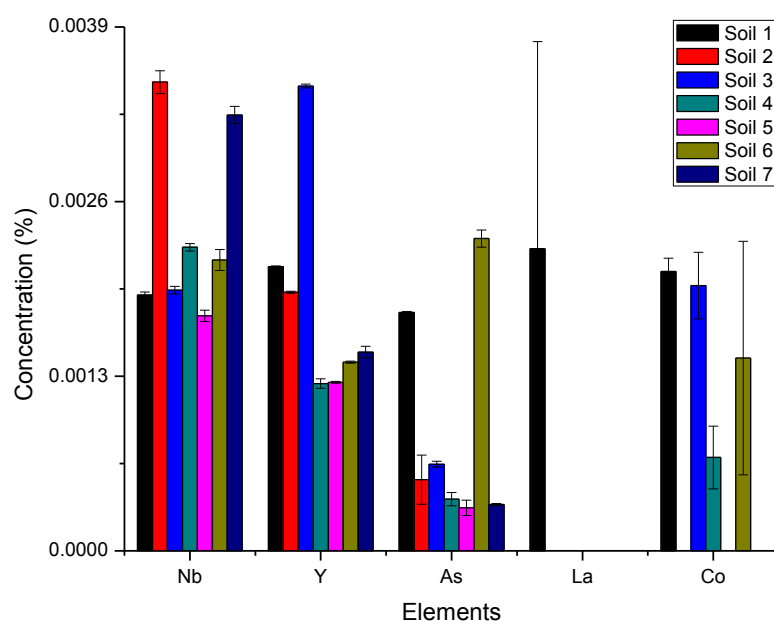


Figura 4- 12: Comparación de elementos traza para muestras de suelo de diferentes locaciones con los mismos elementos, utilizando PEDXRF y los elementos Nb, Y, As, La y Co.

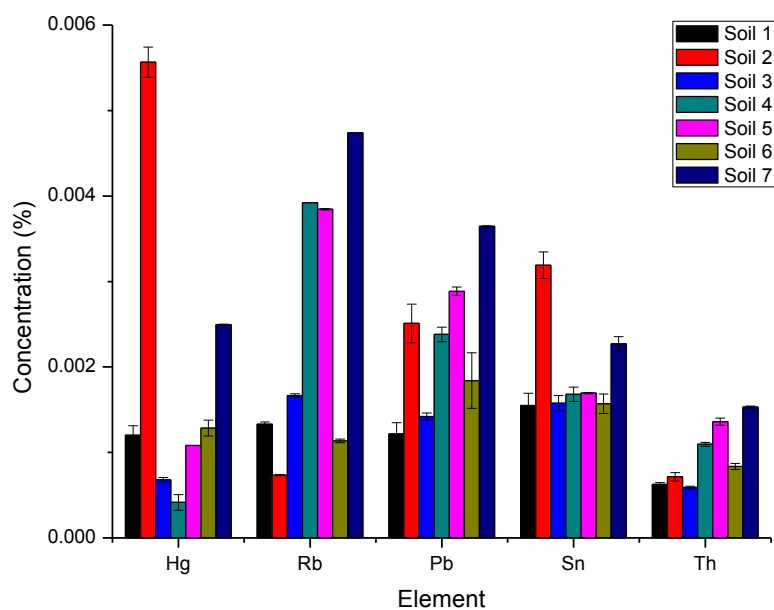


Figura 4- 13: Comparación de elementos traza para muestras de suelo de diferentes locaciones con los mismos elementos, utilizando PEDXRF y los elementos Hg, Rb, Pb, Sn y Th.

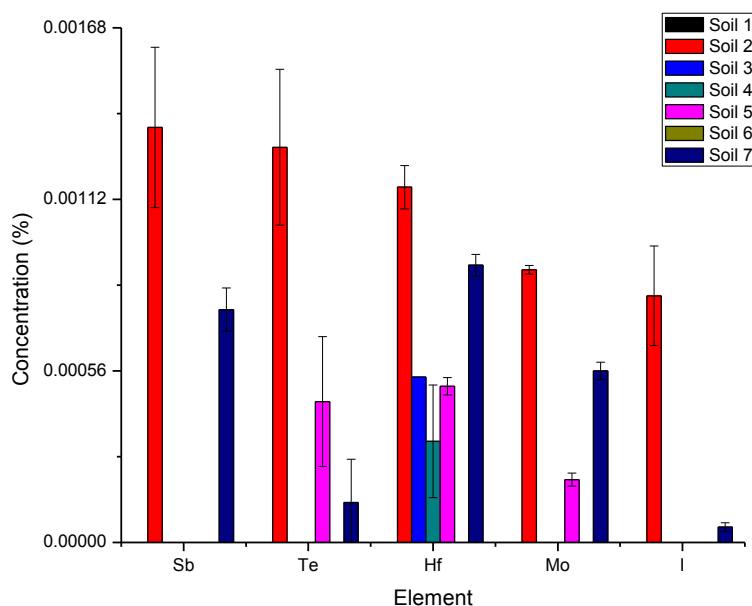


Figura 4- 14: Comparación de elementos traza para muestras de suelo de diferentes locaciones con los mismos elementos, utilizando PEDXRF y los elementos Sb, Te, Hf, Mo y I.

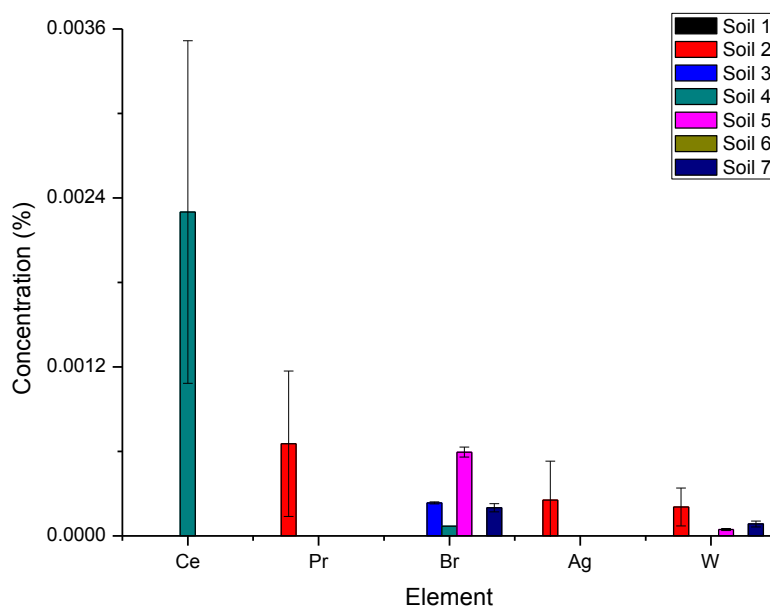


Figura 4- 15: Comparación de elementos traza para muestras de suelo de diferentes locaciones con los mismos elementos, utilizando PEDXRF y los elementos Ce, Pr, Br, Ag y W.



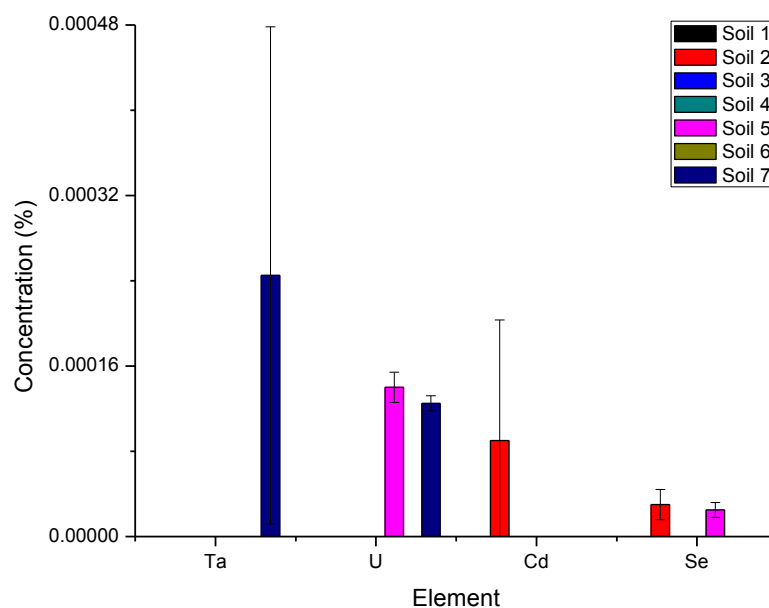


Figura 4- 16: Comparación de elementos traza para muestras de suelo de diferentes locaciones con los mismos elementos, utilizando PEDXRF y los elementos Ta, U, Cd and Se.

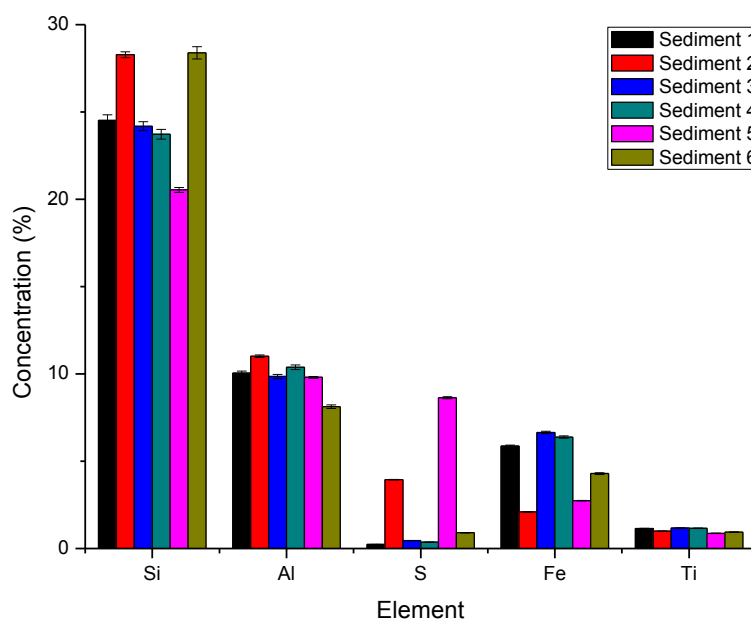


Figura 4- 17: Comparación de elementos traza para muestras de sedimentos de diferentes locaciones con los mismos elementos, utilizando PEDXRF y los elementos Si, Al, S, Fe y Ti.

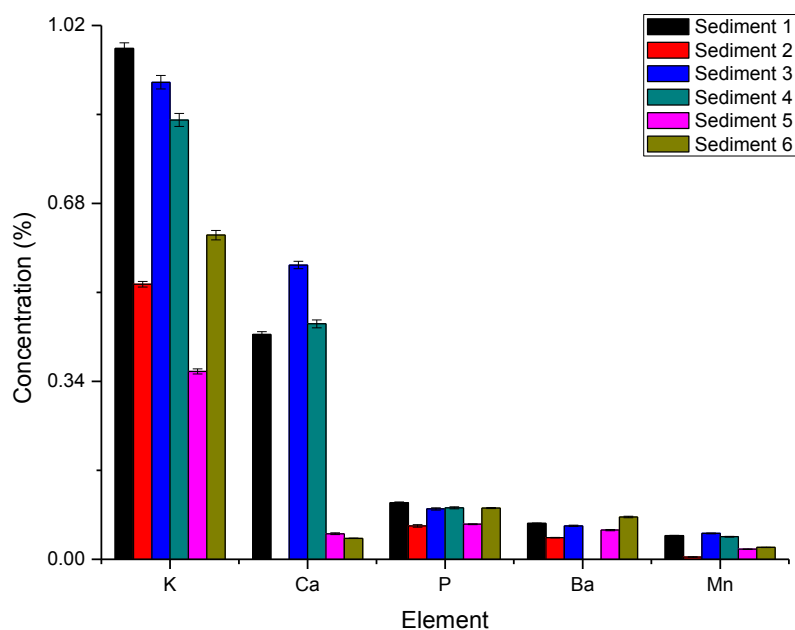


Figura 4- 18: Comparación de elementos traza para muestras de sedimentos de diferentes locaciones con los mismos elementos, utilizando PEDXRF y los elementos K, Ca, P, Ba y Mn.

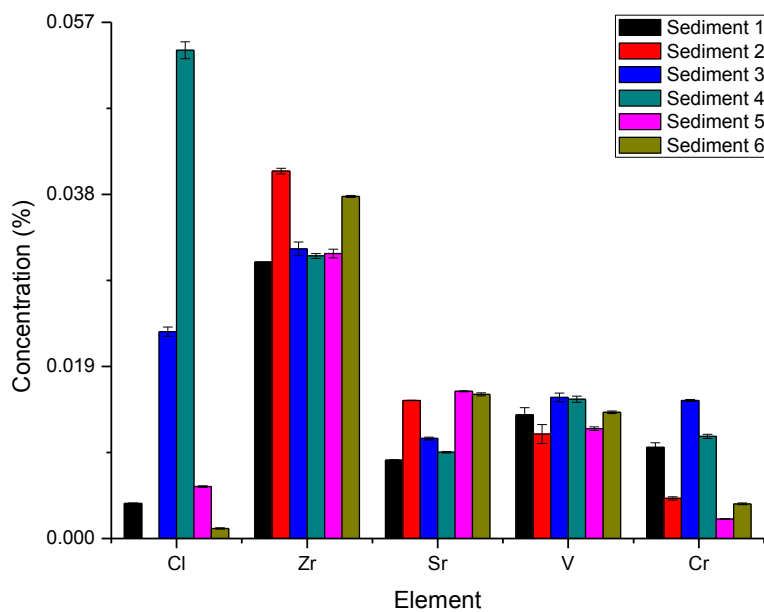


Figura 4- 19: Comparación de elementos traza para muestras de sedimentos de diferentes locaciones con los mismos elementos, utilizando PEDXRF y los elementos Cl, Zr, Sr, V y Cr.

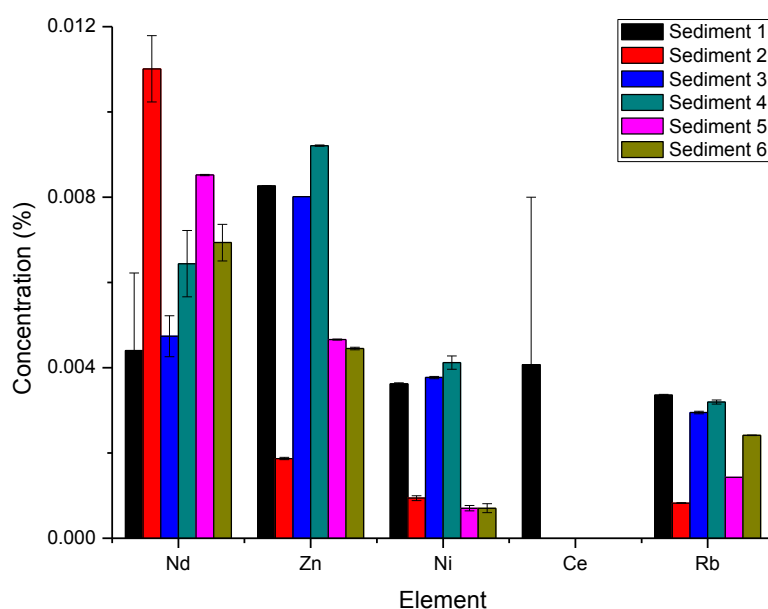


Figura 4- 20: Comparación de elementos traza para muestras de sedimentos de diferentes locaciones con los mismos elementos, utilizando PEDXRF y los elementos Nd, Zn, Ni, Ce y Rb.

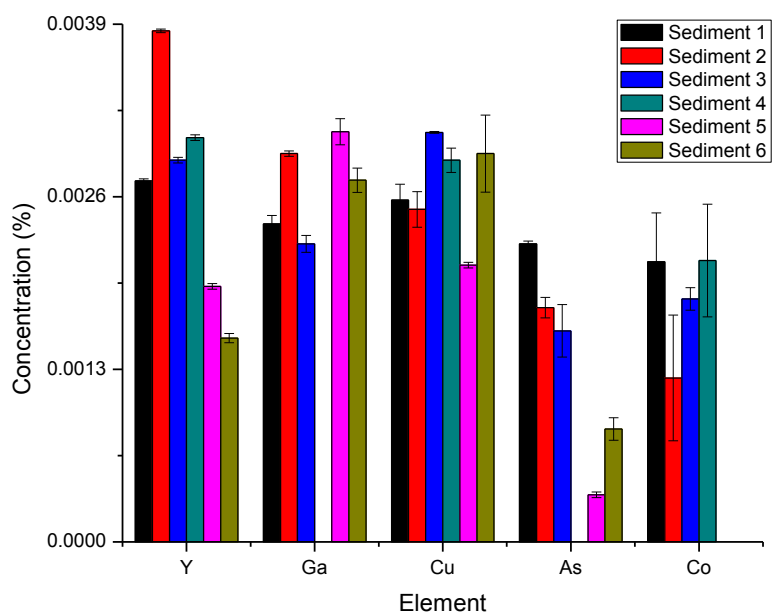


Figura 4- 21: Comparación de elementos traza para muestras de sedimentos de diferentes locaciones con los mismos elementos, utilizando PEDXRF y los elementos Y, Ga, Cu, As y Co.

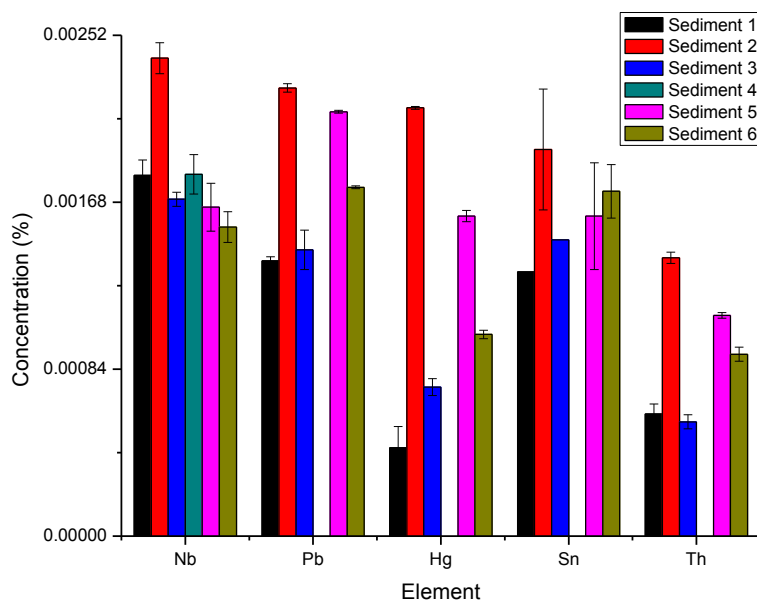


Figura 4- 22: Comparación de elementos traza para muestras de sedimentos de diferentes locaciones con los mismos elementos, utilizando PEDXRF y los elementos Nb, Pb, Hg, Sn y Th.

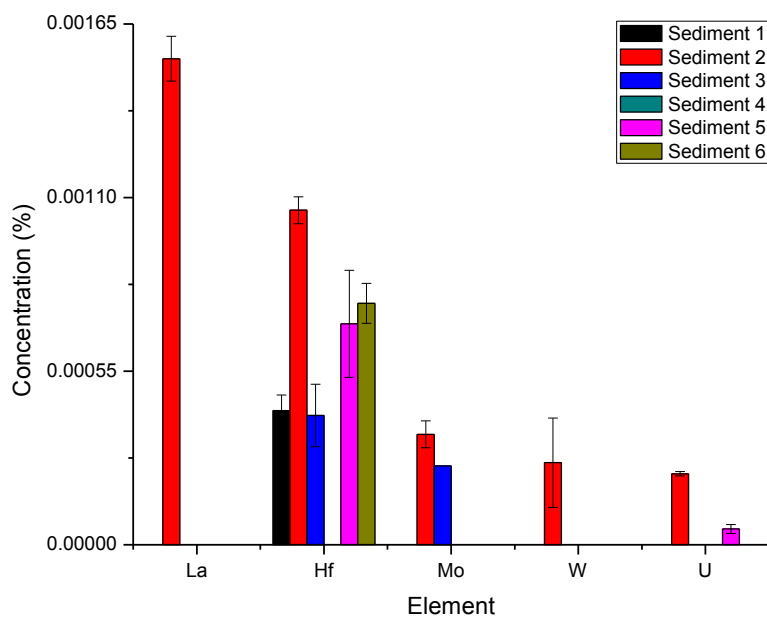


Figura 4- 23: Comparación de elementos traza para muestras de sedimentos de diferentes locaciones con los mismos elementos, utilizando PEDXRF y los elementos La, Hf, Mo, W y U.

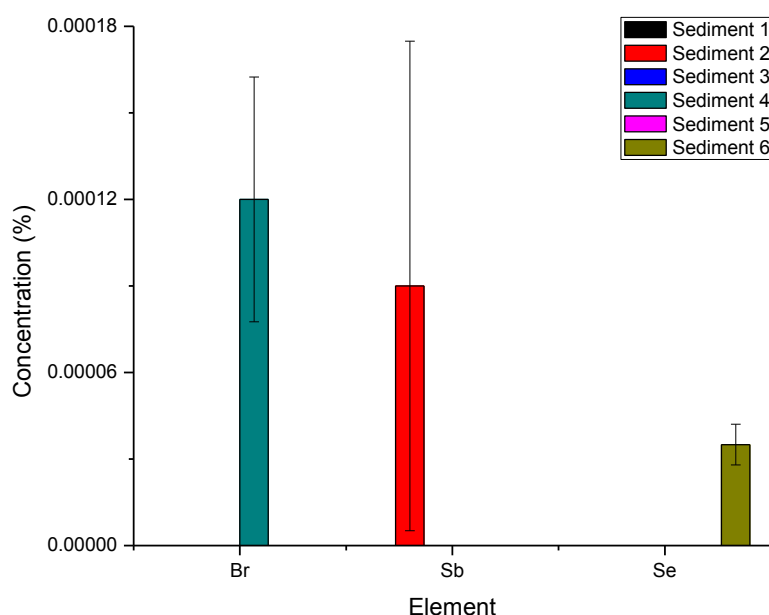


Figura 4- 24: Comparación de elementos traza para muestras de sedimentos de diferentes locaciones con los mismos elementos, utilizando PEDXRF y los elementos Br, Sb y Se.

Según los resultados del análisis de concentración de los elementos traza en varios lugares son diferentes, cada sitio tiene diferentes y únicas características. La lista de los elementos en orden de sus abundancias en la corteza en la superficie de la Tierra son O, Si, Al, Fe, Na, Ca, Mg, K, H, Mn, P, S, C, V, Cl, Cr, Zn, Ni, Cu, Co, N, Pb, Sn, Br, Be, As, F, Mo, W, Tl, I, Sb, Cd y Se [106]. Los cinco elementos más altos encontrados en las muestras de suelo son Si, Fe, Al, Ti y Ca; mientras que, en el sedimento son Si, Al, S, Fe y Ti. Sin embargo, el Si es de los elementos traza más altos, tanto en muestras de suelo y sedimentos, más del 90% de la corteza terrestre se compone de minerales de silicato, por lo que el silicio el segundo elemento más abundante en la corteza terrestre (alrededor del 28% por peso) después del oxígeno [107].

La tabla 4-6 presenta la concentración media del analito de las muestras de los sedimentos y suelo por PEDXRF comparada con la corteza de la Tierra [108]. Las muestras de sedimentos tienen mayor promedio de concentración en comparación con las muestras de suelo y la corteza de la Tierra para los elementos: Al, S, Ti, Ga, As, Hf y W; las muestras de suelo tienen mayor concentración en comparación con las muestras de sedimentos y corteza de la tierra en los elementos: P, Cr, Fe, Br, Nb, Mo, Sn, Sb, Te, I, Hf, Hg y Pb; mientras que, la corteza terrestre tienen mayor concentración en los elementos: Si, K, Ca, V, Mn, Ni, Cu, Zn, Rb, Sr, Y, Ba, Th y U. de hecho, la concentración media para el suelo y las muestras de sedimentos no da una idea real de la concentración de cada lugar; algún lugar tenía muy alta concentración de un elemento específico, mientras que otros no la tienen. Sin embargo,

la concentración promedio da la idea de diferencia general, es decir, la concentración de azufre es muy alta en muestras del sedimento ( $24243.33 \pm 153.91$  ppm) y del suelo ( $5527.93 \pm 51.01$  ppm) comparadas con la de la corteza de la Tierra en varias ocasiones (470 ppm), y esta una situación normal para un entorno geotérmico, pues las fumarolas emiten gas  $H_2S$  a la atmósfera.

| Z  | Símbolo | Elemento  | Suelo presentando un trabajo de ppm <sup>1</sup> | Sedimento presentando un trabajo de ppm | Concentración de la Corteza Terrestre ppm [108] |
|----|---------|-----------|--------------------------------------------------|-----------------------------------------|-------------------------------------------------|
| 11 | Na      | Sodio     | $3442.86 \pm 111.12$                             | $6623.33 \pm 223.92$                    | 25000                                           |
| 12 | Mg      | Magnesio  | $3637.40 \pm 30.26$                              | $4706.92 \pm 58.34$                     | 18700                                           |
| 13 | Al      | Aluminio  | $69683.57 \pm 670.54$                            | $98685.00 \pm 1025.30$                  | 80500                                           |
| 14 | Si      | Sílice    | $252800.00 \pm 1939.49$                          | $249391.67 \pm 2533.80$                 | 295000                                          |
| 15 | P       | Fósforo   | $1424.49 \pm 11.68$                              | $885.38 \pm 16.33$                      | 930                                             |
| 16 | S       | Azúfre    | $5527.93 \pm 51.01$                              | $24243.33 \pm 153.91$                   | 470                                             |
| 17 | Cl      | Cloro     | $75.53 \pm 1.07$                                 | $174.98 \pm 3.34$                       | 170                                             |
| 19 | K       | Potasio   | $6121.64 \pm 77.48$                              | $7051.92 \pm 92.98$                     | 25000                                           |
| 20 | Ca      | Calcio    | $2905.66 \pm 44.91$                              | $3061.53 \pm 44.76$                     | 29600                                           |
| 22 | Ti      | Titanio   | $9825.07 \pm 113.84$                             | $10433.00 \pm 132.23$                   | 4500                                            |
| 23 | V       | Vanadio   | $116.30 \pm 2.61$                                | $137.03 \pm 4.99$                       | 90                                              |
| 24 | Cr      | Cromo     | $107.04 \pm 2.19$                                | $78.33 \pm 1.91$                        | 83                                              |
| 25 | Mn      | Manganeso | $251.21 \pm 3.03$                                | $307.68 \pm 4.25$                       | 1000                                            |
| 26 | Fe      | Hierro    | $49921.00 \pm 363.25$                            | $46692.50 \pm 430.16$                   | 46500                                           |
| 27 | Co      | Cobalto   | $15.46 \pm 3.62$                                 | $18.24 \pm 3.38$                        | 18                                              |
| 28 | Ni      | Níquel    | $23.29 \pm 1.56$                                 | $23.10 \pm 0.73$                        | 58                                              |
| 29 | Cu      | Cobre     | $23.37 \pm 0.48$                                 | $26.75 \pm 1.11$                        | 47                                              |
| 30 | Zn      | Zinc      | $52.33 \pm 0.55$                                 | $60.78 \pm 0.15$                        | 83                                              |
| 31 | Ga      | Galio     | $24.30 \pm 0.71$                                 | $26.76 \pm 0.68$                        | 19                                              |
| 33 | As      | Arsénico  | $9.04 \pm 0.56$                                  | $13.61 \pm 0.81$                        | 1.7                                             |
| 34 | Se      | Selenio   | $0.28 \pm 0.11$                                  | $0.35 \pm 0.07$                         | 0.05                                            |
| 35 | Br      | Bromo     | $2.75 \pm 0.18$                                  | $1.20 \pm 0.42$                         | 2.1                                             |
| 37 | Rb      | Rubidio   | $24.81 \pm 0.12$                                 | $23.62 \pm 0.19$                        | 150                                             |
| 38 | Sr      | Estroncio | $105.31 \pm 0.48$                                | $127.69 \pm 0.91$                       | 340                                             |
| 39 | Y       | Ytrio     | $18.41 \pm 0.17$                                 | $26.58 \pm 0.21$                        | 29                                              |
| 40 | Zr      | Zirconio  | $328.28 \pm 2.96$                                | $339.24 \pm 3.19$                       | 170                                             |
| 41 | Nb      | Niobio    | $23.94 \pm 0.49$                                 | $18.24 \pm 0.81$                        | 20                                              |
| 42 | Mo      | Molibdeno | $5.52 \pm 0.21$                                  | $3.00 \pm 0.21$                         | 1.1                                             |
| 47 | Ag      | Plata     | $2.55 \pm 2.76$                                  | -                                       | 0.07                                            |

<sup>1</sup> ppm =  $10^{-4}$  %

|    |    |             |                   |                   |       |
|----|----|-------------|-------------------|-------------------|-------|
| 48 | Cd | Cadmio      | $0.90 \pm 1.13$   | -                 | 0.13  |
| 50 | Sn | Estaño      | $19.33 \pm 0.97$  | $16.22 \pm 1.41$  | 2.5   |
| 51 | Sb | Antimonio   | $10.58 \pm 1.66$  | $0.90 \pm 0.85$   | 0.5   |
| 52 | Te | Telurio     | $6.27 \pm 2.03$   | -                 | 0.001 |
| 53 | I  | Yodo        | $4.28 \pm 0.88$   | -                 | 0.4   |
| 56 | Ba | Bario       | $393.39 \pm 6.99$ | $621.89 \pm 8.90$ | 650   |
| 57 | La | Lantano     | $22.50 \pm 15.41$ | $15.40 \pm 0.71$  | 29    |
| 58 | Ce | Cerio       | $23.00 \pm 12.16$ | $40.75 \pm 39.24$ | 70    |
| 59 | Pr | Praseodimio | $6.55 \pm 5.16$   | -                 | 9     |
| 60 | Nd | Neodimio    | $40.66 \pm 7.70$  | $70.08 \pm 7.17$  | 37    |
| 72 | Hf | Hafnio      | $6.89 \pm 0.64$   | $6.72 \pm 0.85$   | 1     |
| 73 | Ta | Tantalio    | $2.45 \pm 2.33$   | -                 | 2.5   |
| 74 | W  | Wolframio   | $1.12 \pm 0.54$   | $2.60 \pm 1.41$   | 1.3   |
| 80 | Hg | Mercurio    | $18.17 \pm 0.73$  | $11.95 \pm 0.41$  | 0.083 |
| 82 | Pb | Plomo       | $22.71 \pm 1.24$  | $17.94 \pm 0.31$  | 16    |
| 90 | Th | Torio       | $9.64 \pm 0.28$   | $9.23 \pm 0.33$   | 13    |
| 92 | U  | Uranio      | $1.33 \pm 0.11$   | $1.38 \pm 0.11$   | 2.5   |

Tabla 4- 6: Comparación de la concentración de elementos traza químicos entre las muestras de suelos y sedimentos con la Corteza Terrestre.

El análisis químico de elementos traza de los suelos, sedimentos y muestras de agua mediante el uso de ICP-AES son Fe, Al, S, K, P y B; los elementos Fe, S, K, P y B son nutrientes importantes para las plantas, mientras que Al se encuentra en grandes cantidades en las aguas termales y fumarolas en Los Azufres. Detalles de la composición de los elementos traza con la comparación entre diferentes lugares para las muestras del suelo, los sedimentos y el agua se muestran en las figuras 4-26, 4-27 y 4-28.

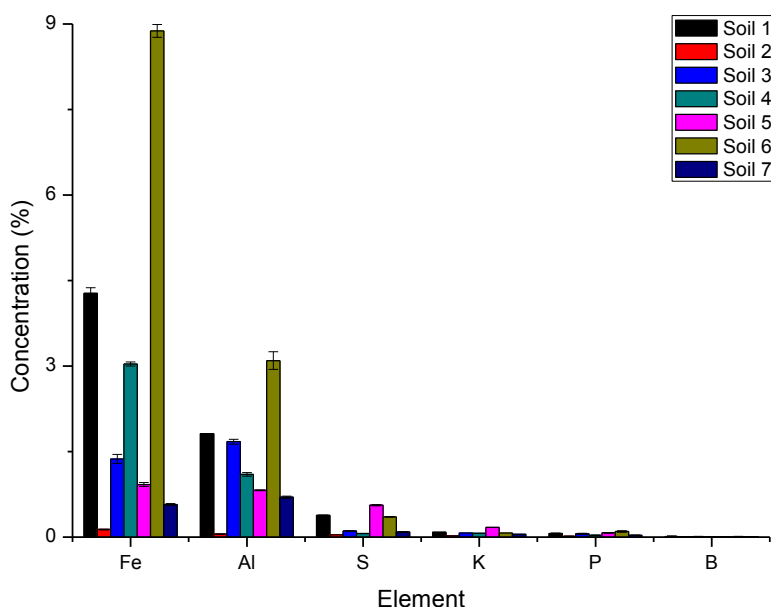


Figura 4- 25: Comparación de elementos traza para las muestras de suelo de diferentes locaciones con los mismos elementos utilizando ICP-AES y los elementos Fe, Al, S, K, P y B.

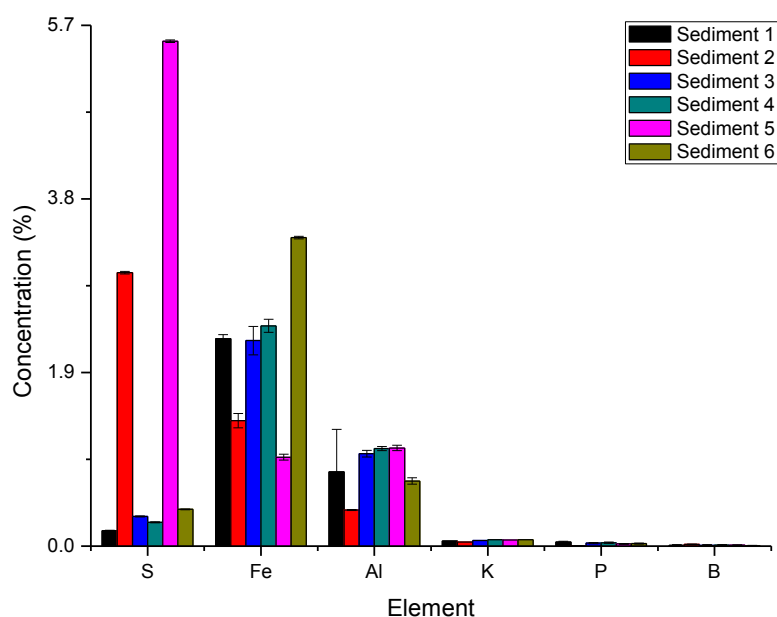


Figura 4- 26: Comparación de elementos traza para las muestras de sedimentos de diferentes locaciones con los mismos elementos utilizando ICP-AES y los elementos S, Fe, Al, K, P and B.

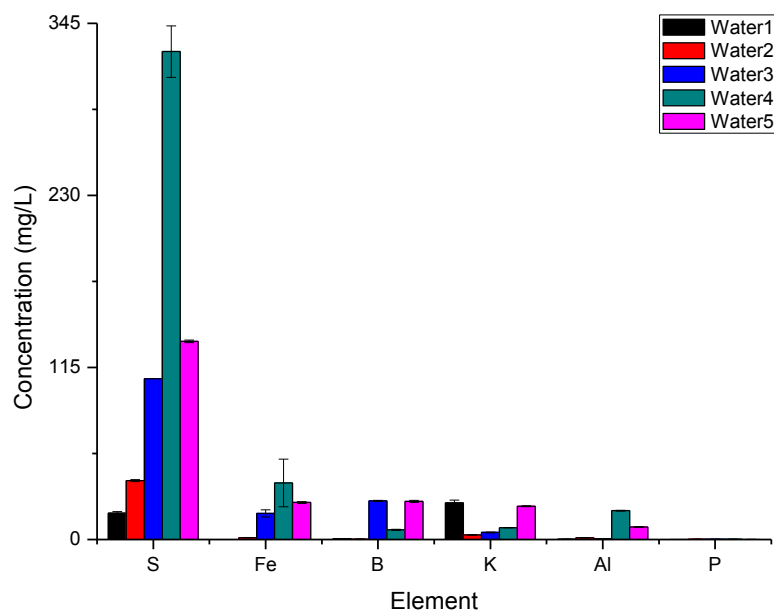


Figura 4- 27: Comparación de elementos traza para las muestras de agua de diferentes locaciones con los mismos elementos utilizando ICP-AES y los elementos S, Fe, B, K, Al y P.

Los PEDXRF dieron la cantidad total de los elementos dentro de las muestras, mientras que, el de ICP-AES analiza elementos móviles o adsorbidos en el sedimento y muestras de suelo rizosféricas; ambas técnicas se integraron entre sí; La relación (ICP-AES / PEDXRF) de la concentración de elementos traza químicos dio la diferencia entre la concentración total y móvil de elementos; como se muestra en las figuras 4-29 y 4-30.



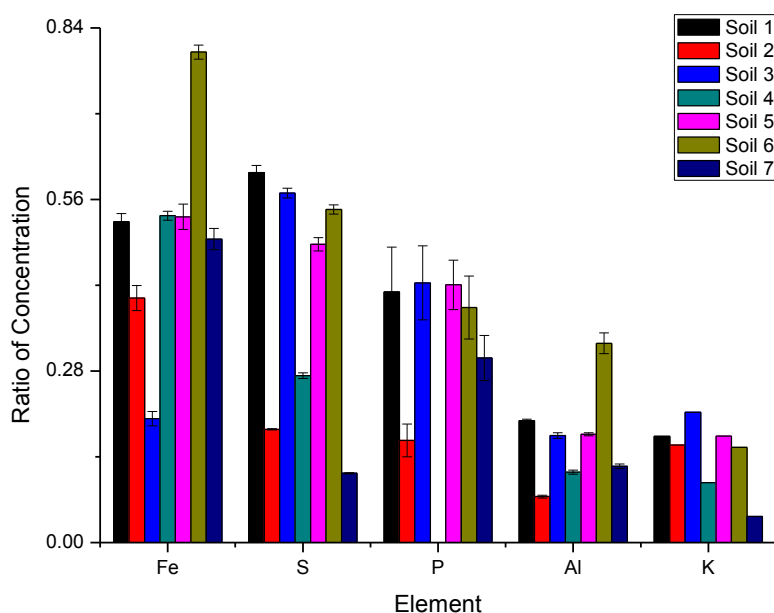


Figura 4- 28: Comparación de la concentración de la proporción (ICP-AES/PEDXRF) para las muestras de suelo de diferentes locaciones con los mismos elementos, elementos Fe, S, P, Al y K.

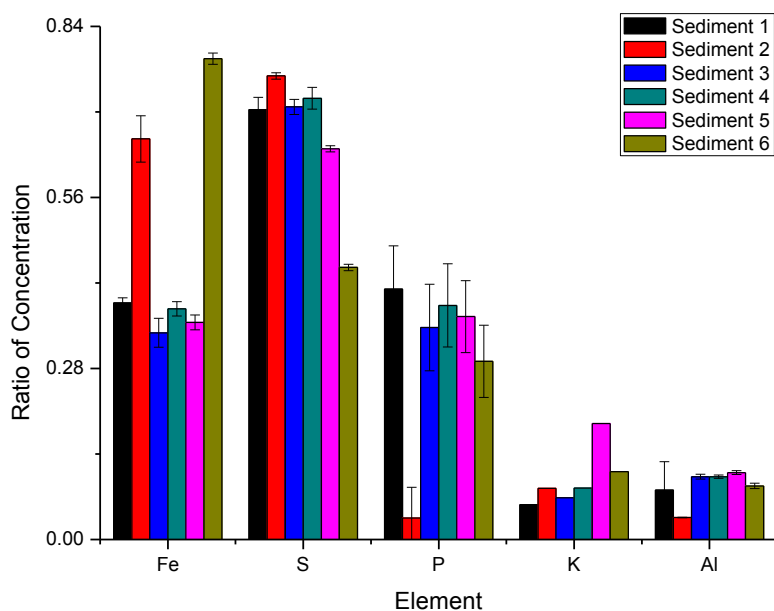


Figura 4- 29: Comparación de la concentración de la proporción (ICP-AES/PEDXRF) para las muestras de sedimento de diferentes locaciones con los mismos elementos, elementos Fe, S, P, K y Al.

Elementos de alta movilidad fueron encontrados en muestras de suelo y sedimentos, las muestras de sedimentos tienen elementos de movilidad superiores a las muestras de suelo, y los elementos de movilidad más altos son Fe, S y P, en tanto que K y Al son de

menos movilidad. Elementos móviles pueden absorberse por las raíces de las plantas y hacer uso de estos elementos en el proceso metabólico.

La proporción de la concentración mostró que el suelo rizosférico y muestras de sedimentos mejoran los elementos necesarios para cultivar las plantas, de hecho, fuentes termales y fumarolas enriquecen los nutrientes en el suelo rizosférico, por lo que aumentan el número y la diversidad de las plantas.

#### 4.4 CONCLUSIONES

Los métodos de los PEDXRF no se comparan directamente con los métodos de ICP-AES; los métodos de PEDXRF analizan cantidades totales del analito, mientras que el método de ICP-AEA analiza sólo los componentes lábil del analito en ácidos nítricos o adsorbidos o sus elementos móviles. ICP-AES tiene una gran ventaja en la medición de muestras líquidas, y esa capacidad se considera que es la ventaja más importante para los métodos de ICP-AES.

Sin embargo, PEDXRF puede analizar las muestras líquidas; las muestras líquidas en ebullición durante el análisis por el calor producido de la radiografía se considera inconveniente y podría ser peligroso, el calor puede cambiar la concentración y el volatilizado o vaporizado puede ser peligroso para la salud, por otro lado, el volatilizado o vaporizado de la muestra podría destruir el detector o tubo de rayos x. La principal ventaja de los métodos de PEDXRF es la capacidad de análisis de las muestras de polvo, este futuro no está disponible en los métodos de ICP-AES.

La concentración de elementos traza en muestras de suelo y sedimento es normalmente mucho mayor que los de las muestras de agua. La matriz de las muestras líquidas es simple en comparación con las muestras de suelo y sedimentos.

Las áreas cercanas a las fumarolas y aguas termales tienen una mayor concentración de elementos traza en comparación con otras áreas. Cada lugar tiene diferentes concentraciones de elementos traza, esa la capacidad única enriquece la vida de las plantas y los animales.

Las propiedades únicas de la composición de los elementos traza de fumarolas y aguas termales proporcionan los nutrientes necesarios y fertilizan las plantas. Fumarolas y aguas termales son necesarias para enriquecer la vida natural para las plantas y los animales.

## **CAPÍTULO 5: CARACTERIZACIÓN Y CONCENTRACIÓN DE ELEMENTOS TRAZA EN MUSGOS Y HELECHOS EN Y/O CERCA DE LOS RESPIRADEROS DE LAS FUMAROLAS Y AGUAS TERMALES DE LOS AZUFRES**

### **5.1 INTRODUCCIÓN**

En un hábitat geotérmico, el calor del interior de la tierra crea un suministro constante de agua muy caliente. A medida que el agua caliente pasa a través de la superficie de la Tierra se puede disolver una amplia gama de minerales, que se añaden a la superficie del medio ambiente. A pesar de esta combinación inusual química y temperatura, estos hábitats soportan una gran variedad de formas de vida [109].

Hábitats geotérmicos se encuentran en todo el planeta, con mayor frecuencia en áreas expuestas a la actividad volcánica [109]. Los Azufres, Michoacán, es un campo geotérmico activo de México, en la parte central de México, que es donde se encuentra también el cinturón del Eje Neovolcánico Transversal, a una altura promedio de 2,800 metros sobre el nivel del mar [110]. Los hábitats geotérmicos presentan fumarolas y aguas termales, características disponibles en Los Azufres; las fumarolas son definidas como aberturas en la superficie de la Tierra en donde el vapor y los gases a presión son capaces de escapar [109], las fumarolas están ligadas a fenómenos volcánicos secundarios [111], mientras que, las aguas termales son el resultado de agua calentada rumbo a encontrar su camino a la superficie a través de grietas, donde forma pequeños estanques; el agua se calienta por el magma fundido por debajo de la superficie de la Tierra. Los géiseres son erupciones de vapor y de agua causada por la acumulación de agua caliente debajo de la superficie de una fuente termal [109].

Algunas plantas son capaces de tolerar las condiciones extremas que se encuentran en hábitats geotérmicos. Las especies de helechos y musgos que se encuentran en hábitats geotérmicos sobreviven tal vez debido a que los el vapor de agua y los suelos con calefacción los ayudan a protegerse de las heladas y de los animales [109].

Los entornos de áreas geotérmicas (a veces denominados solfataras) se caracterizan por gradientes empinados de temperatura, las concentraciones inusuales de minerales y elementos, y alta acidez. Los sistemas geotérmicos son importantes para la extracción de la energía y el turismo. Sin embargo, la ecología de la biota geotérmica ha sido poco estudiado [112].

Las fumarolas representan un hábitat muy interesante y peculiar, que se caracteriza por las altas temperaturas y de las emisiones de humos calientes incluyendo un alto

porcentaje de azufre; este tipo de hábitat permite exclusivamente la colonización de plantas muy especializadas. La boca de la fumarola se cubre generalmente alrededor de los cojines de briofitos. En particular, hay dos tipos de fumarolas: la emisión de gases que sale de grietas rocosas o por medio de agujeros de tierra [113 y 111].

Los musgos y helechos se producen dentro de unos pocos centímetros de los orificios de ventilación donde las temperaturas alcanzan por encima de 80 °C, mientras que las temperaturas adyacentes al césped de musgo pueden llegar a 35-50 °C o más y permanecer constantemente entre 25-45 °C. En un contexto mundial de áreas geotérmicas proporcionan un único tipo de hábitat para las plantas. La combinación de calor, vapor de agua, la inestabilidad del sustrato y concentraciones de nutrientes a menudos insignificantes o niveles tóxicos de gas sulfuroso y los depósitos minerales, imponen severas restricciones sobre las plantas colonizadoras, algunas de los cuales están adaptados para sobrevivir a estas condiciones [114].

La aparición de estos musgos y helechos que son vinculados a un área particular geotérmica, da al hábitat de las fumarolas y aguas termales la importancia de la conservación del medio ambiente. De hecho, representa un sitio de refugio para la fauna relictas de taxones, permitiendo también los procesos de especiación [111].

Poco se sabe sobre las condiciones de la temprana Tierra primitiva en que las primeras formas de vida y, posteriormente, las primeras células han evolucionado. La vida es muy probablemente mayor que las rocas más antiguas conocidas, por lo que hay pocas posibilidades de obtener pistas sobre los hábitats de vida más primitivas de los registros geológicos. Las áreas geotermales imitan las tierras primitivas tempranas, sin embargo, el estudio de estas plantas primitivas geotérmicas que viven en zonas geotérmicas quizá nos ayude a comprender la vida primitiva en la Tierra, y tal vez eso nos lleve a comprender otros planetas.

Al proceso de las emisiones de rayos X característicos se le llama fluorescencia de rayos X, XRF. Cuando una fuente de excitación primaria de rayos X de un tubo de rayos X o una fuente radiactiva golpea una muestra, la radiografía bien puede ser absorbida por el átomo o dispersada a través del material. El proceso en el que una placa de rayos x es absorbida por el átomo mediante la transferencia de la totalidad de su energía a un electrón más interno se le llama el efecto fotoeléctrico. Durante este proceso, si la radiografía primaria tenía suficiente energía, los electrones son expulsados de las capas internas, creando vacantes. Estas vacantes presentan una condición inestable del átomo. Como el átomo vuelve a su condición estable, los electrones de las capas exteriores se transfieren a las carcasas interiores y en el proceso emiten unos rayos X característicos de cuya energía es la diferencia entre el enlace de las dos energías de las cáscaras correspondientes. Debido a que cada elemento tiene un conjunto único de los niveles de energía, cada elemento produce rayos x en un único conjunto de energías, lo que permite de forma no destructiva la medición de la composición elemental de una muestra. A veces,

como el átomo vuelve a su estado estable, en lugar de emitir rayos X característicos transfiere la energía de excitación directamente a uno de los electrones exteriores, haciendo que sea expulsada del átomo. El electrón expulsado se llama electrón Auger. Este proceso es un proceso que compite con los XRF. Los electrones Auger son más probables en los elementos de baja Z que en los elementos de alta Z. Al análisis mediante fluorescencia de rayos X se le llama Espectroscopia de fluorescencia de rayos X. En la mayoría de los casos las capas más interiores K y L están involucradas en la detección de fluorescencia de rayos X [115]. Un espectro de radiografía típica de una muestra irradiada puede mostrar diferentes haces de diferentes intensidades, las cuales son líneas de fluorescencia KL.

Los Parámetros Fundamentales sin Estandarizar (FP) tiene un método de análisis teórico basado en la calibración teórica. Este tipo de programa se limita a una matriz específica. TURBOQUANT-SPECTRO utiliza el análisis de detección para determinar los elementos desde Na hasta U en las muestras desconocidas por completo pueden ser rápidamente analizadas. Todos los efectos de la matriz pueden ser consideradas. Por tanto, esta metodología permite al analista obtener la composición elemental, incluso cuando las muestras vegetales estándares no están disponibles. De una manera general, la precisión relativa de este método de cuantificación (si el coeficiente de absorción de masa es bueno y la exactitud de los resultados fueron documentados) son por lo general mejor que 5-10%, que es suficiente para la mayoría de los propósitos ambientales. El grado particularmente alto de dispersión por matrices de luz provoca un problema importante para la aplicación de fluorescencia de rayos X para el análisis de elementos traza y ultra traza en materiales orgánicos (por ejemplo, especímenes de plantas) [116].

Los efectos físicos de las matrices resultan de las variaciones en las características físicas de la muestra, incluyendo el tamaño de partícula, la uniformidad, la homogeneidad y el estado de la superficie. En muestras de plantas, los efectos de la segregación y el tamaño de grano se consideran a ser relativamente pequeños si se utilizan procedimientos adecuados para la molienda y granulación para formación de pastillas [116].

Efectos químicos de las matrices resultan de las diferencias en las concentraciones de los elementos interferentes presentes en la muestra. Materiales vegetales comprenden principalmente C, N, H y O (~ 98%), que son en su mayoría transparentes a los rayos x. Como resultado, la absorción por matrices vegetales de los rayos X medidos es relativamente pequeño en comparación con la absorción por las matrices de otros materiales (por ejemplo, muestras de suelo o roca), por lo que la absorción se verá influenciada por las concentraciones menores de otros elementos presentes en la matriz vegetal (por ejemplo, S, Cl, K, Ca, Fe, etc.) [116].

El fondo se puede reducir muy significativamente mediante el uso de fuentes de rayos X polarizados. Sin embargo, un objetivo secundario está interpuesto entre el tubo de rayos X y la muestra configurando una geometría cartesiana (tri-axial, 3D) entre la fuente,

de la muestra y el detector. Con esta geometría, una reducción significativa del fondo en el espectro fluorescente se logra debido a que la radiación de excitación es polarizada cuando la dispersión se produce a través del ángulo recto y no puede entonces ser dispersada por segunda vez en el detector, por lo que la sensibilidad y límite de detección de elementos traza y menores son mejores que las de los espectrómetros convencionales [116].

La mayoría de las técnicas de XRF cumplen con las características deseadas para el análisis de muestras vegetales, incluyendo: (1) la posibilidad de realizar un análisis directamente en muestras sólidas; (2) la capacidad multi-elemento; (3) la posibilidad de realizar determinaciones cualitativa, semicuantitativa y cuantitativamente, (4) un amplio rango dinámico, (5) de alto rendimiento, (6) el bajo coste por determinación, (7) la simple preparación de muestras [116].

La Espectrometría de Emisión Atómica de Plasma de Acoplamiento Inductivo - ICP-AES es una técnica espectrofotométrica de emisión, aprovechando el hecho de que los electrones excitados emiten energía a una longitud de onda dada ya que vuelven a su estado fundamental. La característica fundamental de este proceso es que cada elemento emite energía en longitudes de onda específicas propias de su carácter químico. Aunque cada elemento emite energía en múltiples longitudes de onda, en la técnica de ICP-AES es más común para seleccionar una única longitud de onda (o muy pocas) para un elemento dado. La intensidad de la energía emitida en la longitud de onda elegida es proporcional a la cantidad (concentración) de ese elemento en la muestra analizada. Por lo tanto, mediante la determinación de longitudes de onda que son emitidas por una muestra y mediante la determinación de sus intensidades, el analista puede cuantificar la composición elemental de la muestra dada con relación a un estándar de referencia. La ventaja fundamental de ICP-AES es que el análisis rápido y cuantitativo de una gran variedad de tipos de muestras puede llevarse a cabo con relativa facilidad con un solo instrumento [43].

El análisis por ICP-AES requiere que una muestra sea en solución. Por lo tanto, las aguas intersticiales pueden ser analizadas sencillamente, requiriendo dilución en la mayoría de los casos. Las rocas ígneas, rocas sedimentarias y sedimentos, sin embargo, deben ser disueltos. Esto se puede lograr ya sea por un ataque ácido combinado empleando HF, HNO<sub>3</sub>, y ácidos HCl, o por una técnica de flujo de fusión LiBO<sub>2</sub> similar a la utilizada para la preparación de XRF. El procedimiento de digestión de ácido también da lugar a menudo al análisis incompleto de elementos refractarios, tales como Ti, Cr, Zr y debido a que sus minerales huéspedes son a menudo difíciles de disolver [43].

### 5.1.1 FITORREMEDIACIÓN

Fitorremediación, el uso de las plantas verdes y sus microbios asociados para eliminar contaminantes del entorno (limpieza) o para convertirlos en inocuos [117 y 118], es de hecho, una tecnología de limpieza eficiente, y puede aplicarse a contaminantes tanto de variedad orgánica e inorgánica, presentes en sustratos sólidos (por ejemplo, suelo), sustratos, líquidos (por ejemplo, agua subterránea y agua superficial), y el aire o sustratos gaseosos [118, 119 y 120]; las plantas también se pueden utilizar para filtrar el aire, tanto en exteriores como en interiores, a partir de, por ejemplo,  $\text{NO}_x$ ,  $\text{SO}_2$ , ozono,  $\text{CO}_2$ , gases nerviosos, polvo o partículas de hollín o hidrocarburos halogenados volátiles. Las plantas pueden ser usadas para la estabilización del contaminante, la extracción, la degradación, o la volatilización; esta tecnología hace uso de los procesos que ocurren naturalmente, por el cual las plantas y de la flora de su rizosfera microbiana que secuestra y degrada contaminantes orgánicos e inorgánicos [119]. La fitorremediación está siendo desarrollada como una solución potencial para la rehabilitación de miles de sitios contaminados en el mundo. El uso de plantas que acumulan metales para limpiar suelos y aguas contaminadas con metales tóxicos es el componente de más rápido desarrollo de esta tecnología ecológica, rentable y de naturaleza intrínsecamente estética [117 y 120]. La fitorremediación se ha convertido recientemente en un tema de gran interés público y científico [117].

Los metales específicos para la fitorremediación no radiactiva incluyen Pb, Cd, Cr, As, Hg, Zn, etc. y radionucleidos Sr, Cs y U (denominado aquí como metales tóxicos) son los contaminantes metálicos más importantes del medio ambiente [117 y 121]. El tejido de la planta cosechada, rica en contaminante acumulado, se procesa fácilmente y con seguridad por secado, calcinación o el compostaje. El volumen de los residuos tóxicos producidos como resultado generalmente es una fracción del total actual, y los costes asociados son mucho menores. Algunos metales se pueden recuperar de las cenizas, lo que reduce aún más la generación de residuos peligrosos y genera utilidades reciclaje [117]. Técnicas de recuperación a base de plantas se muestran cada vez más prometedoras para su uso en suelos contaminados con contaminantes orgánicos e inorgánicos [121].

Las plantas están vivas, sus raíces necesitan oxígeno, agua y nutrientes. La textura del suelo, pH, salinidad, concentraciones de contaminantes y la presencia de otras sustancias tóxicas deben estar dentro de los límites de tolerancia de las plantas. Contaminantes altamente solubles en agua pueden involucrarse en procesos químicos mediante la lixiviación, y puede ser necesario que se considere un proceso de recuperación a largo plazo [121].

Inorgánicos son tomados por los procesos biológicos a través de proteínas transportadoras de membrana. Estos transportadores se producen naturalmente, porque los contaminantes inorgánicos bien son los propios nutrientes (por ejemplo, nitrato,

fosfato, cobre, manganeso, zinc) o son químicamente similares a los nutrientes y se toman sin darse cuenta (por ejemplo, arseniato es tomado por los transportadores de fosfato, selenato por los transportadores de sulfato) [119].

Las plantas pueden liberar compuestos a partir de sus raíces que afectan la solubilidad de contaminantes y la absorción por la planta. Dentro de los tejidos vegetales tales compuestos quelantes también juegan un papel en la tolerancia, el secuestro, y el transporte de compuestos inorgánicos y orgánicos [121]. En apoyo de esto, se ha demostrado que algunas especies de plantas toleran Al en la rizosfera por un mecanismo que implica la exudación de ácidos cítrico y málico. De todos modos, los microorganismos del suelo también pueden influir directamente en la solubilidad del metal mediante la alteración de sus propiedades químicas [122].

El potencial de la fitorremediación depende de la interacción entre el suelo, los contaminantes, microbios y plantas. Esta interacción compleja, afectada por una variedad de factores, tales como las condiciones climáticas, las propiedades del suelo, e hidrogeología del sitio. Por lo tanto, una comprensión de los mecanismos básicos de la planta y el efecto de las prácticas agronómicas en ella, el suelo y la interacción contaminante permitirían a los profesionales optimizar la fitorremediación mediante la personalización del proceso a las condiciones específicas del sitio [122].

#### **5.1.1.1 PLANTAS HIPER-ACUMULADORAS**

Las plantas hiper-acumuladoras se definen convencionalmente como especies capaces de acumular metales a niveles de 100 veces mayores que los normalmente medidos en plantas no-acumuladoras comunes. Por lo tanto, en una planta hiper-acumuladora se concentrarán más de 10 ppm de Hg; 100 ppm de Cd; 1.000 ppm de Co, Cr, Cu y Pb, y 10.000 ppm de Ni y Zn. Hasta la fecha, aproximadamente 400 especies de plantas de al menos 45 familias de plantas han sido reportadas como de hiper-acumulación de metales; otras, las especies hiper-acumuladoras de metales, son capaces de absorber a miles de ppm [122], en detalle, la mayoría de las especies hiper-acumuladoras son capaces de acumular entre 1-5% de su biomasa como metales [123].

Las plantas hiper-acumuladoras son taxonómicamente extensas en todo el reino vegetal. Un miembro de la familia Brassica, *caerulescens* Thlaspi, puede acumular hasta un 4% de zinc en sus tejidos sin daño aparente. Sin embargo, el potencial de aplicación de hiper-acumuladoras en biorremediación se ve limitada por varios factores: 1) las hiper-acumuladoras suelen acumular sólo un elemento específico y no se han encontrado todos los elementos de interés, 2) la mayoría de las hiper-acumuladoras crecen lentamente y tienen pequeña biomasa, 3) poco se sabe acerca de sus características agronómicas, manejo de plagas, el potencial de la cría y la fisiología [121], 4) la fitorremediación está limitada



por la profundidad de la raíz, las plantas tienen que ser capaces de llegar a los contaminantes [119].

### 5.1.2 OBJETIVOS

Ocurrencia natural de las especies de plantas capaces de acumular niveles extraordinariamente altos de metal hace de la investigación de este proceso particularmente interesante. El objetivo general de esta investigación es proporcionar una descripción general de las especies de plantas hiper-acumuladoras que viven en condiciones extremas en el área geotérmica de Los Azufres, México, de hecho, los objetivos secundarios son: (1) describir el ambiente térmico experimentado por la vegetación (musgos y helechos) definidas alrededor de las fumarolas y aguas termales, (2) las características y las concentraciones de elementos traza químicos mayores y menores en especies vegetales hiper-acumuladoras (musgos y helechos) en Los Azufres, (3) se correlacionan la relación entre suelo de la rizosfera y la vegetación (musgos y helechos), (4) mejorar el conocimiento de las especies de plantas hiper-acumuladoras; (5) correlacionar los elementos traza de alta concentración de las especies de las plantas hiper-acumuladoras (musgos o helechos).

## 5.2 MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.2.1 INSTRUMENTACIÓN

Diferentes técnicas se aplicaron para determinar los elementos traza composiciones y concentraciones químicas. Espectrometría de Emisión Atómica de Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-AES y ICP-OES) y Espectrometría de Energía Dispersiva Polarizada de Fluorescencia de Rayos X (PEDXRF) elegida para este estudio, ambas técnicas son fiables para la determinación de elementos traza químicos. Los límites de detección de menos de 1 mg g<sup>-1</sup> eran alcanzables para muchos elementos utilizando PEDXRF con software moderno para producir espectros limpios, las intensidades netas de haz de punta, las correcciones precisas para efectos de la matriz entre los elementos e impurezas espectrales de tubos.

Espectrómetro Optima 8000 ICP-OES (de PerkinElmer, Inc., Waltham, EE.UU.), con doble vista y la configuración del detector de longitud de onda completa gama CCD matriz se utilizó para el análisis de las concentraciones de B, Al, P, S, Fe, Pb y K; el análisis ICP-AES fue realizado en la Universidad de Texas, Texas, EE.UU..

SPECTRO XEPOS III (Spectro Analytical Systems GmbH, Kleve, Alemania) utiliza la espectrometría configurada de PEDXRF. La excitación se realiza por el tubo de rayos X de

baja potencia y la determinación simultánea de la radiación de fluorescencia. Se puede utilizar para el análisis rápido de detección elemental y / o el análisis preciso de compuestos mayores y menores en el material; el análisis PEDXRF se realizó en la Universidad Michoacana de Nicolás de Hidalgo de Morelia, Michoacán, México.

La precisión y la exactitud de la espectrometría PEDXRF fueron probadas por el análisis de los Materiales de Referencia Estándar (SRMs) polvos de cerámica 98a arcilla plástica (NIST, Maryland, EE.UU.) y el suelo GSS-1 (NRCC, Beijing, China). Estas dos normas fueron muy bien homogeneizadas, y la media de tamaño de las partículas son  $12.980 \pm 3.387\mu\text{m}$  y  $5.955 \pm 3.293\mu\text{m}$ , respectivamente, con una media de tamaño de partícula medida por el analizador de partículas láser (LS100Q partículas láser Analizador de Beckman Coulter Corp., California, EE.UU.).

### 5.2.2 LAS DESCRIPCIONES DE LOS SITIOS

Los fluidos contenidos en el depósito de campo geotérmico de Los Azufres es utilizado por la Comisión Federal de Electricidad, CFE para generar electricidad, además sus valores científicos e históricos, en los últimos años llevó a Los Azufres a convertirse en una importante atracción turística.

Los tres sitios escogidos para este trabajo son Nopalito I, Cumbres I y Cumbres II, estos tres sitios en Los Azufres están a gran altura, y la influencia humana ha sido muy limitada a estos sitios y, de hecho, estos sitios no se utilizan para el turismo u otra actividad. Dos sitios cambiaron en un lapso de 2 años, por ejemplo, desaparecieron las aguas termales, comenzaron unas fumarolas nuevas, etc.; de cualquier modo, todas las aguas termales cambian de acuerdo a las temporadas de lluvia; para reducir el efecto de los cambios de estación, el muestreo se realiza aproximadamente en la misma fecha con diferentes años, la ubicación de los sitios se muestra en la figura 4 -6.

El sitio Nopalito I: consta de varias fumarolas; el tamaño y la actividad de las fumarolas es variable, en nuestro trabajo, la primera opción son las fumarolas más activas. El sitio consta de un manantial mayor de aguas termales y pequeños manantiales de aguas termales los cuales dependen de la cantidad de lluvia, la principal fuente termal está cerca de las fumarolas. En el verano, el nivel del agua llega a ser muy alta (temporada de lluvias), y una gran cantidad de pequeños manantiales de aguas termales se activa.

Sitio Cumbres I y Cumbres II: los dos sitios están conectados el uno al otro. Cumbres I consiste de un manantial principal de aguas termales, y una serie de fuentes termales y fumarolas, las aguas termales y serie de fumarolas se encuentran en una zona de rocas, entre las rocas pocas plantas crecen y, de hecho, las aguas termales y la serie de fumarolas conectan Cumbres I y Cumbres II. Cumbres II comienza con la serie de aguas termales y

fumarolas, después del final de esta serie, se dispone de una gran cantidad de plantas; en las fumarolas también disponibles en Cumbres II se recogieron las muestras de musgo, sin embargo, las fumarolas tal vez cambien en el futuro a aguas termales.

La vegetación geotérmica de Los Azufres es notable como: (a) que contiene varias especies de plantas raras, (b) las malas hierbas y (c) que está rodeado de bosques autóctonos. Todos los sitios que se utilizan para recoger las plantas eran por su naturaleza zonas muy peligrosas y que están bajo supervisión.

### 5.2.3 PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR LAS MUESTRAS

Treinta y tres análisis de muestras de helechos y musgos mediante PEDXRF y ICP-AES; detalladamente, las muestras son divididas en 17 de musgos y 16 de helechos (4 helechos completos y 12 helechos repartidos en 6 raíces y 6 tallos y hojas) muestras, sitio de muestreo, la fecha y la nota para cada punto de muestreo se muestra en la tabla 5-1 y 5-2. De hecho, estamos interesados en las plantas que viven en condiciones extremas únicas. Algunos musgos y helechos son asociados ya sea con planta geotérmica activa o sin calefacción, pero todas las plantas encontradas bajo la influencia de la energía geotérmica. Todos los helechos y musgos fueron recogidos de sus hábitats naturales.

| Sitio de la Muestra | Sitio de Muestreo | Fecha de Muestreo | Nota para la Locación de Muestreo                                            |
|---------------------|-------------------|-------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| 1F                  | Cumbres II        | 3/12/2010         | ~20m lejos de las aguas termales                                             |
| 2F                  | Cumbres II        | 1/12/2011         | ~40m lejos de las aguas termales                                             |
| 3F                  | Cumbres I         | 1/12/2011         | ~3m lejos de las aguas termales; aguas termales desaparecieron en ese sitio  |
| 4F                  | Nopalito I        | 1/12/2011         | En fumarola de ventilación                                                   |
| 5F                  | Cumbres II        | 3/12/2010         | ~25m lejos de las aguas termales                                             |
| 6F                  | Cumbres II        | 3/12/2010         | ~30m lejos de las aguas termales                                             |
| 7F                  | Nopalito I        | 3/12/2010         | ~20m lejos de las aguas termales and ~2m lejos de la fumarola de ventilación |
| 8F                  | Nopalito I        | 3/12/2010         | ~20m lejos de las aguas termales and ~2m lejos de la fumarola de ventilación |
| 9F                  | Cumbres II        | 3/12/2010         | ~60m lejos de las aguas termales                                             |
| 10F                 | Cumbres I         | 1/12/2011         | ~3m lejos de las aguas termales; aguas termales desaparecieron en ese sitio  |
| 11F                 | Cumbres II        | 1/12/2011         | ~40m lejos de las aguas termales                                             |
| 12F                 | Cumbres II        | 1/12/2011         | ~60m lejos de las aguas termales                                             |
| 13F                 | Nopalito I        | 1/12/2011         | En fumarola de ventilación                                                   |
| 14F                 | Cumbres II        | 3/12/2010         | ~40m lejos de las aguas termales                                             |
| 15F                 | Cumbres II        | 3/12/2010         | ~60m lejos de las aguas termales                                             |

**16F** Cumbres II 3/12/2010 ~40m lejos de las aguas termales

**Tabla 5- 1: Sitio y fecha de Muestreo y nota para la locación de muestreo de los helechos.**

| Nombre de la Muestra | Sitio de Muestreo | Fecha de Muestreo | Note for Sampling Location                                                     |
|----------------------|-------------------|-------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| <b>1M</b>            | Cumbres I         | 12/03/2010        | ~50cm lejos de las aguas termales ; aguas termales desaparecieron en ese sitio |
| <b>2M</b>            | Nopalito I        | 12/03/2010        | En fumarola de ventilación                                                     |
| <b>3M</b>            | Cumbres II        | 12/03/2010        | ~70m lejos de las aguas termales and 1-2m lejos de la fumarola de ventilación  |
| <b>4M</b>            | Nopalito I        | 12/03/2010        | En fumarola de ventilación                                                     |
| <b>5M</b>            | Nopalito 1        | 12/03/2010        | En fumarola de ventilación                                                     |
| <b>6M</b>            | Cumbres II        | 12/01/2011        | ~70m lejos de las aguas termales and 1-2m far away from the fumarole vent      |
| <b>7M</b>            | Nopalito I        | 12/01/2011        | On the fumarole vent                                                           |
| <b>8M</b>            | Cumbres II        | 12/01/2011        | ~70m lejos de las aguas termales and 1-2m far away from the fumarole vent      |
| <b>9M</b>            | Cumbres II        | 12/01/2011        | ~70m lejos de las aguas termales and 1-2m far away from the fumarole vent      |
| <b>10M</b>           | Nopalito 1        | 12/01/2011        | On the fumarole vent                                                           |
| <b>11M</b>           | Cumbres II        | 12/01/2011        | ~70m lejos de las aguas termales and 1-2m far away from the fumarole vent      |
| <b>12M</b>           | Cumbres II        | 12/01/2011        | ~70m lejos de las aguas termales and 1-2m far away from the fumarole vent      |
| <b>13M</b>           | Nopalito I        | 12/01/2011        | On the fumarole vent                                                           |
| <b>14M</b>           | Cumbres II        | 12/01/2011        | ~70m lejos de las aguas termales and 1-2m far away from the fumarole vent      |
| <b>15M</b>           | Nopalito I        | 12/01/2011        | On the fumarole vent                                                           |
| <b>16M</b>           | Cumbres II        | 12/01/2011        | ~70m lejos de las aguas termales and 1-2m far away from the fumarole vent      |
| <b>17M</b>           | Cumbres II        | 12/03/2010        | ~70m lejos de las aguas termales and 1-2m far away from the fumarole vent      |

**Tabla 5- 2: Sitio de Muestreo, fecha de muestreo y nota de la locación de muestreo para las muestras de musgo.**

Las plantas se lavaron muy bien con agua del grifo, y después, con el agua ultrapura (destilada) para eliminar el polvo superficial, todas las plantas se secaron a 60 °C durante más de 48h (depende de la cantidad de contenido de agua). Sin embargo, la mayoría de los materiales sólidos requieren pretratamiento de la muestra para que sean homogéneas y para garantizar la calidad y la reproducibilidad del análisis [116]. Todas las muestras de suelo en pequeñas partículas de mortero y pistilo (<5 mm) a polvo fino <105µm hechas por una máquina eléctrica (Molino mezclador MM 400, RETSCH, Alemania), y se pasan por un tamiz de una malla de 140 y una anchura e 105µm y, en realidad, todas las muestras

pasaron 24 horas en el horno para asegurarse de que no hay humedad. Finalmente, las muestras más secas se presionan en una pastilla de un diámetro interno de 25 mm; análisis de la muestra como una forma de cómo polvo; los pormenores para las densidades, espesores y pesos físicos de las pastillas, se muestran en las Tablas 5-3 y 5-4.

| Nombre de la Muestra | Tipo de la Muestra | Diámetro mm | Carga para hacer pastilla ton | Presión Fuerza/Área N/m <sup>2</sup> | Peso <sup>2</sup> de la Muestra g | Profundidad Física mm | Densidad g/mm <sup>3</sup>                        |
|----------------------|--------------------|-------------|-------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------|---------------------------------------------------|
| 1F                   | Pastilla           | 25          | 10.4                          | $207.2 \times 10^6$                  | 3.9996                            | $8.2760 \pm 0.0378$   | $9.1800 \times 10^{-4} \pm 4.2057 \times 10^{-6}$ |
| 2F                   | Pastilla           | 25          | 10.4                          | $207.2 \times 10^6$                  | 0.9248                            | $1.6620 \pm 0.0746$   | $1.0894 \times 10^{-3} \pm 4.8920 \times 10^{-5}$ |
| 3F                   | Pastilla           | 25          | 10.4                          | $207.2 \times 10^6$                  | 4.0006                            | $7.7980 \pm 0.0192$   | $1.0155 \times 10^{-3} \pm 2.5135 \times 10^{-6}$ |
| 4F                   | Pastilla           | 25          | 10.4                          | $207.2 \times 10^6$                  | 4.0005                            | $6.7700 \pm 0.0235$   | $1.1361 \times 10^{-3} \pm 3.9364 \times 10^{-6}$ |
| 5F                   | Pastilla           | 25          | 10.4                          | $207.2 \times 10^6$                  | 4.0002                            | $7.7680 \pm 0.0497$   | $9.8931 \times 10^{-4} \pm 6.3358 \times 10^{-6}$ |
| 6F                   | Pastilla           | 25          | 10.4                          | $207.2 \times 10^6$                  | 1.1773                            | $2.0440 \pm 0.0207$   | $1.1294 \times 10^{-3} \pm 1.1458 \times 10^{-5}$ |
| 7F                   | Pastilla           | 25          | 10.4                          | $207.2 \times 10^6$                  | 3.9992                            | $7.5380 \pm 0.0228$   | $1.0192 \times 10^{-3} \pm 3.0872 \times 10^{-6}$ |
| 8F                   | Pastilla           | 25          | 10.4                          | $207.2 \times 10^6$                  | 1.2596                            | $1.8020 \pm 0.0217$   | $1.3948 \times 10^{-3} \pm 1.6781 \times 10^{-5}$ |
| 9F                   | Pastilla           | 25          | 10.4                          | $207.2 \times 10^6$                  | 3.9991                            | $7.2040 \pm 0.0152$   | $1.0763 \times 10^{-3} \pm 2.2869 \times 10^{-6}$ |
| 10F                  | Pastilla           | 25          | 10.4                          | $207.2 \times 10^6$                  | 3.9993                            | $8.0180 \pm 0.0286$   | $9.6739 \times 10^{-4} \pm 3.4566 \times 10^{-6}$ |
| 11F                  | Pastilla           | 25          | 10.4                          | $207.2 \times 10^6$                  | 4.0002                            | $7.1860 \pm 0.0351$   | $1.0781 \times 10^{-3} \pm 5.2626 \times 10^{-6}$ |
| 12F                  | Pastilla           | 25          | 10.4                          | $207.2 \times 10^6$                  | 3.9997                            | $7.0580 \pm 0.0409$   | $1.0975 \times 10^{-3} \pm 6.3566 \times 10^{-6}$ |
| 13F                  | Pastilla           | 25          | 10.4                          | $207.2 \times 10^6$                  | 3.9993                            | $7.5180 \pm 0.0217$   | $1.0190 \times 10^{-3} \pm 2.9394 \times 10^{-6}$ |
| 14F                  | Pastilla           | 25          | 10.4                          | $207.2 \times 10^6$                  | 0.5363                            | $0.9780 \pm 0.0179$   | $1.0856 \times 10^{-3} \pm 1.9858 \times 10^{-5}$ |
| 15F                  | Pastilla           | 25          | 10.4                          | $207.2 \times 10^6$                  | 0.7821                            | $1.3560 \pm 0.0134$   | $1.1636 \times 10^{-3} \pm 1.1514 \times 10^{-5}$ |
| 16F                  | Polvo              | 10          | Polvo                         | Polvo                                | 0.0514                            | $0.1460 \pm 0.0616$   |                                                   |

Tabla 5- 3: Detalles de las pastillas para cada muestra de helecho.

| Nombre de la Muestra | Tipo de la Muestra | Diámetro mm | Carga para hacer pastilla ton | Presión Fuerza/Área N/m <sup>2</sup> | Peso <sup>3</sup> de la Muestra g | Profundidad Física mm | Densidad g/mm <sup>3</sup>                        |
|----------------------|--------------------|-------------|-------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------|---------------------------------------------------|
| 1M                   | Pastilla           | 25          | 10.4                          | $207.2 \times 10^6$                  | 0.9940                            | $1.9200 \pm 0.0235$   | $1.0014 \times 10^{-3} \pm 1.2245 \times 10^{-5}$ |
| 2M                   | Pastilla           | 25          | 10.4                          | $207.2 \times 10^6$                  | 4.0003                            | $6.9460 \pm 0.0550$   | $1.1116 \times 10^{-3} \pm 8.8130 \times 10^{-6}$ |
| 3M                   | Pastilla           | 25          | 10.4                          | $207.2 \times 10^6$                  | 3.9999                            | $8.4820 \pm 0.0327$   | $9.0385 \times 10^{-4} \pm 3.4920 \times 10^{-6}$ |
| 4M                   | Pastilla           | 25          | 10.4                          | $207.2 \times 10^6$                  | 0.8657                            | $1.5320 \pm 0.0228$   | $1.1072 \times 10^{-3} \pm 1.6480 \times 10^{-5}$ |
| 5M                   | Pastilla           | 25          | 10.4                          | $207.2 \times 10^6$                  | 2.0929                            | $3.4660 \pm 0.0230$   | $1.1454 \times 10^{-3} \pm 7.6084 \times 10^{-6}$ |
| 6M                   | Pastilla           | 25          | 10.4                          | $207.2 \times 10^6$                  | 3.9993                            | $6.7700 \pm 0.0255$   | $1.1438 \times 10^{-3} \pm 4.3254 \times 10^{-6}$ |
| 7M                   | Pastilla           | 25          | 10.4                          | $207.2 \times 10^6$                  | 3.9994                            | $7.2540 \pm 0.0391$   | $1.0557 \times 10^{-3} \pm 5.6982 \times 10^{-6}$ |
| 8M                   | Pastilla           | 25          | 10.4                          | $207.2 \times 10^6$                  | 3.9999                            | $6.8820 \pm 0.0192$   | $1.1159 \times 10^{-3} \pm 3.1216 \times 10^{-6}$ |
| 9M                   | Pastilla           | 25          | 10.4                          | $207.2 \times 10^6$                  | 3.9998                            | $8.4020 \pm 0.0432$   | $9.4426 \times 10^{-4} \pm 4.8654 \times 10^{-6}$ |
| 10M                  | Pastilla           | 25          | 10.4                          | $207.2 \times 10^6$                  | 4.0002                            | $6.8260 \pm 0.0152$   | $1.1391 \times 10^{-3} \pm 2.5358 \times 10^{-6}$ |
| 11M                  | Pastilla           | 25          | 10.4                          | $207.2 \times 10^6$                  | 3.9995                            | $7.2200 \pm 0.0552$   | $1.0516 \times 10^{-3} \pm 8.0447 \times 10^{-6}$ |
| 12M                  | Pastilla           | 25          | 10.4                          | $207.2 \times 10^6$                  | 4.0008                            | $7.9720 \pm 0.0909$   | $9.6654 \times 10^{-4} \pm 1.1031 \times 10^{-5}$ |

<sup>2</sup> Es recomendación de SPECTRO XEPOS III (Spectro Analytical Instruments GmbH) usar 4g de muestra en una taza de muestra de 24mm de diámetro o en un diámetro die de 32mm.

<sup>3</sup> Es recomendación de SPECTRO XEPOS III (Spectro Analytical Instruments GmbH) usar 4g de muestra en una taza de muestra de 24mm de diámetro o en un diámetro die de 32mm.

|            |          |    |      |                     |        |                     |                                                   |
|------------|----------|----|------|---------------------|--------|---------------------|---------------------------------------------------|
| <b>13M</b> | Pastilla | 25 | 10.4 | $207.2 \times 10^6$ | 3.9994 | $5.1040 \pm 0.0195$ | $1.5469 \times 10^{-3} \pm 5.9137 \times 10^{-6}$ |
| <b>14M</b> | Pastilla | 25 | 10.4 | $207.2 \times 10^6$ | 1.7781 | $3.3340 \pm 0.0297$ | $1.0244 \times 10^{-3} \pm 9.1160 \times 10^{-6}$ |
| <b>15M</b> | Pastilla | 25 | 10.4 | $207.2 \times 10^6$ | 1.3651 | $2.2000 \pm 0.0200$ | $1.2372 \times 10^{-3} \pm 1.1248 \times 10^{-5}$ |
| <b>16M</b> | Pastilla | 25 | 10.4 | $207.2 \times 10^6$ | 3.9996 | $8.7560 \pm 0.0907$ | $8.6821 \times 10^{-4} \pm 8.9970 \times 10^{-6}$ |
| <b>17M</b> | Pastilla | 25 | 10.4 | $207.2 \times 10^6$ | 3.6727 | $7.3820 \pm 0.0228$ | $9.4886 \times 10^{-4} \pm 2.9406 \times 10^{-6}$ |

Tabla 5- 4: Detalles de la pastilla para cada muestra de musgo.

Pastillas de tierra seca (25 mm de diámetro) fueron fijadas en polietileno en la copa de muestra de 32 mm para el análisis, mientras que una muestra de análisis en forma de polvo fue puesta en la copa de muestra de 10 mm (área de superficie =  $78.54\mu\text{m}^2$ ). Las copas de muestra estaban cubiertas de un lado con una película delgada hecha de prolene. Finalmente, las muestras obtenidas se analizaron por espectrometría de PEDXRF.

En las muestras secas de tierra analizadas por ICP-AES en la Universidad de Texas, Texas, EE.UU., el método de digestión seguido fue USEPA: Método 3050B.

### 5.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los helechos y musgos elegidos en este estudio son: los musgos (briofitas) considerados como un indicadores de elementos pesados, la capacidad de los musgos que viven en los respiraderos de las fumarolas y muy cerca de las aguas termales es único y que los helechos tienen capacidad de vivir en o cerca de los respiraderos de las fumarolas y aguas termales, pero la biomasa es pequeña en comparación con los helechos que viven lejos de las rejillas de ventilación de las fumarolas o aguas termales.

Dieciséis muestras de helechos y diecisiete muestras de musgos fueron analizados por espectrometría PEDXRF y ICP-AES, todas las muestras de helechos y musgos han sido identificadas por científicos, el nombre científico de las muestras de helechos y musgos se han dado en las tablas 5-5 y 5-6.

| Nombre de la Muestra | Nombre del Helecho                                                          | Parte de la Planta  |
|----------------------|-----------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| <b>1F</b>            | <i>Pteridium aquilinum</i> (L) Kuhn in v. d. Decken <b>DENNSTAEDTIACEAE</b> | Raíz, tallo y hojas |
| <b>2F</b>            | <i>Phlebodium areolatum</i> (Humb.& Bompl. Ex Willd.) <b>POLYPODIACEAE</b>  | Raíz por 11F        |
| <b>3F</b>            | <i>Pteridium aquilinum</i> (L) Kuhn in v. d. Decken <b>DENNSTAEDTIACEAE</b> | Raíz por 10F        |
| <b>4F</b>            | <i>Pityrogramma calomelanos</i> <b>PTERIDACEA</b>                           | Raíz por 13F        |
| <b>5F</b>            | <i>Pteridium aquilinum</i> (L) Kuhn in v. d. Decken <b>DENNSTAEDTIACEAE</b> | Raíz, tallo y hojas |
| <b>6F</b>            | <i>Phlebodium areolatum</i> (Humb.& Bompl. Ex Willd.) <b>POLYPODIACEAE</b>  | Raíz, tallo y hojas |
| <b>7F</b>            | <i>Pityrogramma calomelanos</i> <b>PTERIDACEA</b>                           | Tallo y hojas       |
| <b>8F</b>            | <i>Pityrogramma calomelanos</i> <b>PTERIDACEA</b>                           | Raíz por 7F         |

|            |                                                                             |                     |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| <b>9F</b>  | <i>Lycopodium clavatum</i> L. <b>LYCOPODIACEA</b>                           | Tallo y hojas       |
| <b>10F</b> | <i>Pteridium aquilinum</i> (L) Kuhn in v. d. Decken <b>DENNSTAEDTIACEAE</b> | Tallo y hojas       |
| <b>11F</b> | <i>Phlebodium areolatum</i> (Humb.& Bompl. Ex Willd.) <b>POLYPODIACEAE</b>  | Tallo y hojas       |
| <b>12F</b> | <i>Lycopodium clavatum</i> L. <b>LYCOPODIACEA</b>                           | Raíz, tallo y hojas |
| <b>13F</b> | <i>Pityrogramma calomelanos</i> <b>PTERIDACEA</b>                           | Tallo y leafs       |
| <b>14F</b> | <i>Polypodium madrense</i> (J. Sm. in Seemann) <b>POLYPODIACEAE</b>         | Raíz, tallo y hojas |
| <b>15F</b> | <i>Lycopodium clavatum</i> L. <b>LYCOPODIACEA</b>                           | Raíz por 9F         |
| <b>16F</b> | <i>Pteridium aquilinum</i> (L) Kuhn in v. d. Decken <b>DENNSTAEDTIACEAE</b> | Raíz                |

Tabla 5- 5: Nombre científico de las muestras de helecho correlacionadas con la parte del helecho.

| Nombre de la Muestra | Nombre del Musgo                                                                        |
|----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>1M</b>            | <i>Campylopus albidovirens</i> Herzog <b>DICRANACEAE</b>                                |
| <b>2M</b>            | <i>Campylopus nivalis</i> (Brid.) Brid. <b>DICRANACEAE</b>                              |
| <b>3M</b>            | <i>Campylopus nivalis</i> (Brid.) Brid. <b>DICRANACEAE</b>                              |
| <b>4M</b>            | <i>Pylaisidelpha tenuirostris</i> (Bruch & Schimp. ex Sull.) W.R. Buck <b>HYPNACEAE</b> |
| <b>5M</b>            | <i>Campylopus nivalis</i> (Brid.) Brid. <b>DICRANACEAE</b>                              |
| <b>6M</b>            | <i>Atractylopus stenocarpus</i> (Wilson) R.H. Zander <b>DICRANACEAE</b>                 |
| <b>7M</b>            | <i>Atractylopus stenocarpus</i> (Wilson) R.H. Zander <b>DICRANACEAE</b>                 |
| <b>8M</b>            | <i>Campylopus pilifer</i> Brid. <b>DICRANACEAE</b>                                      |
| <b>9M</b>            | <i>Pilopogon guadalupensis</i> (Brid.) J.-P. Frahm <b>DICRANACEAE</b>                   |
| <b>10M</b>           | <i>Pylaisidelpha tenuirostris</i> (Bruch & Schimp. ex Sull.) W.R. Buck <b>HYPNACEAE</b> |
| <b>11M</b>           | <i>Campylopus arctocarpus</i> (Hornsch.) Mitt. <b>DICRANACEAE</b>                       |
| <b>12M</b>           | <i>Pilopogon guadalupensis</i> (Brid.) J.-P. Frahm <b>DICRANACEAE</b>                   |
| <b>13M</b>           | <i>Atractylopus stenocarpus</i> (Wilson) R.H. Zander <b>DICRANACEAE</b>                 |
| <b>14M</b>           | <i>Campylopus flexuosus</i> (Hedw.) Brid. <b>DICRANACEAE</b>                            |
| <b>15M</b>           | <i>Symblepharis vaginata</i> (Hook. ex Harv.) Wijk & Margad. <b>DICRANACEAE</b>         |
| <b>16M</b>           | <i>Pilopogon guadalupensis</i> (Brid.) J.-P. Frahm <b>DICRANACEAE</b>                   |
| <b>17M</b>           | <i>Campylopus arctocarpus</i> (Hornsch.) Mitt. <b>DICRANACEAE</b>                       |

Tabla 5- 6: Nombre científico de las muestras de musgo.

Los Bryophyte (musgos, hepáticas y hornworts) prefieren vivir en zonas sombrías y húmedas, y tal vez esa es la razón principal de la capacidad de los musgos para vivir en los respiraderos de las fumarolas o muy cerca de las aguas termales, los gases y vapores le dan a los musgos lo que necesitan para crecer (área sombreada y húmeda), junto a la protección contra los insectos. La temperatura ambiente se registró para cada sitio y dentro de las rejillas de fumarolas (2.5-5 cm), también se midió la humedad y la intensidad de luz; la primera era aproximadamente estable en los diferentes sitios, y la segunda es diferente de una planta a otra, en general, se necesitan menor luz en los musgos en comparación con los helechos, de hecho, algunos helechos vivían en zonas de sombra con

baja intensidad de luz, los dos parámetros son importantes para describir la vida de los musgos y helechos cerca de las rejillas de fumarolas y aguas termales; todos estos parámetros se muestran en las tablas 5-7 y 5-8.

| Nombre de la Muestra | Temperatura Ambiente °C | Temperatura ambiente dentro de la Fumarola de Ventilación °C | Humedad % | Intesidad de Luz lux |
|----------------------|-------------------------|--------------------------------------------------------------|-----------|----------------------|
| 1F                   | 21.1                    | Digital = 52.15; Termómetro = 45                             | 67        | 336 × 10             |
| 2F                   | 18.7                    |                                                              | 69        | 1117 × 1000          |
| 3F                   | 18.7                    |                                                              | 69        | 1117 × 1000          |
| 4F                   | 18.7                    |                                                              | 69        | 1378 × 1             |
| 5F                   | 25.5                    |                                                              | 67        | 1382 × 1000          |
| 6F                   | 16.8                    |                                                              | 67        | 1382 × 1000          |
| 7F                   | 19.7                    |                                                              | 67        | 1256 × 1000          |
| 8F                   | 19.7                    |                                                              | 67        | 1256 × 1000          |
| 9F                   | 25.5                    |                                                              | 67        | 1382 × 1000          |
| 10F                  | 18.7                    |                                                              | 69        | 1117 × 1000          |
| 11F                  | 18.7                    | Digital = 52.15; Termómetro = 45                             | 69        | 1117 × 1000          |
| 12F                  | 18.7                    |                                                              | 69        | 1117 × 1000          |
| 13F                  | 18.7                    |                                                              | 69        | 1378 × 1             |
| 14F                  | 16.8                    |                                                              | 67        | 1382 × 1000          |
| 15F                  | 25.5                    |                                                              | 67        | 1382 × 1000          |
| 16F                  | 25.5                    |                                                              | 67        | 1382 × 1000          |

Tabla 5- 7: Diferentes parámetros medidos en los sitios para las muestras de helechos.

| Nombre de la Muestra | Temperatura Ambiente °C | Temperatura ambiente dentro de la Fumarola de Ventilación °C | Humedad % | Intesidad de Luz lux |
|----------------------|-------------------------|--------------------------------------------------------------|-----------|----------------------|
| 1M                   | 24.8                    | Digital = 60.9; Termómetro = 75                              | 67        | 268 × 10             |
| 2M                   | 19.7                    |                                                              | 67        | 547 × 1              |
| 3M                   | 16.8                    |                                                              | 67        | 1382 × 1000          |
| 4M                   | 19.7                    | Digital =60.9; Termómetro = 75                               | 67        | 547 × 1              |
| 5M                   | 19.7                    | Digital =60.9; Termómetro = 75                               | 67        | 547 × 1              |
| 6M                   | 18.7                    | Digital =52.15; Termómetro = 45                              | 69        | 1065 × 1000          |
| 7M                   | 18.7                    |                                                              | 69        | 1378 × 1             |
| 8M                   | 18.7                    |                                                              | 69        | 1065 × 1000          |
| 9M                   | 18.7                    | Digital =52.15; Termómetro = 45                              | 69        | 1065 × 1000          |
| 10M                  | 18.7                    |                                                              | 69        | 1378 × 1             |
| 11M                  | 18.7                    |                                                              | 69        | 1065 × 1000          |
| 12M                  | 18.7                    | Digital =52.15; Termómetro = 45                              | 69        | 1065 × 1000          |
| 13M                  | 18.7                    |                                                              | 69        | 1378 × 1             |
| 14M                  | 18.7                    |                                                              | 69        | 1065 × 1000          |
| 15M                  | 18.7                    | Digital =52.15; Termómetro = 45                              | 69        | 1378 × 1             |



|            |      |    |             |
|------------|------|----|-------------|
| <b>16M</b> | 18.7 | 69 | 1065 × 1000 |
| <b>17M</b> | 14.3 | 67 | 1382 × 1000 |

**Tabla 5- 8: Diferentes parámetros medidos en los sitios para las muestras de los musgos.**

Los suelos de toda el área geotérmica se consideran pobres para el crecimiento de la mayoría de las plantas debido a su bajo pH, la infertilidad, y niveles inusualmente altos de elementos traza [111]. La capacidad de las comunidades de plantas geotérmicas para crecer en suelos pobres en nutrientes, con niveles tóxicos de algunos elementos es de interés para nosotros.

Una de las características ventajosas de las técnicas de PEDXRF es la posibilidad de realizar el análisis de las muestras directamente en sólidos, que por lo general implica una preparación de muestras más sencilla con una considerable reducción en el uso de reactivos [116]. La mayoría de los análisis de las muestras por espectrometría PEDXRF se realizan como forma de pastillas de 25 mm de diámetro, y una muestra en forma de polvo, en la copa de muestra de 10 mm.

Las cinco concentraciones más altas de elementos traza encontrados en las muestras de helecho son Si, Al, Fe, K y Ca; detalles para las concentraciones son mostrados en las figuras 5-1 a 5-9; cada especie de helechos tiene una capacidad única para recoger elementos específicos; ninguna especie de helecho tiene capacidad de acumular todos los elementos con altas concentraciones, y es considerada su desventaja entre las plantas de hiper-acumuladoras para usarse en la limpieza del suelo a partir de elementos inorgánicos. En apoyo de esto, la muestra de 14F presenta la capacidad de acumular Mn, mientras que, la número 16F presenta una capacidad única para acumular Ta y Co

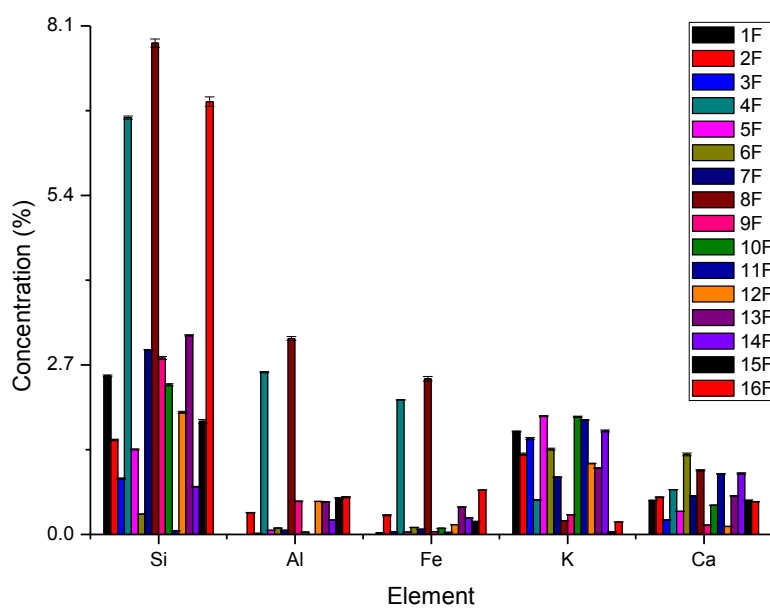


Figura 5- 1: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de helechos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Si, Al, Fe, K y Ca.

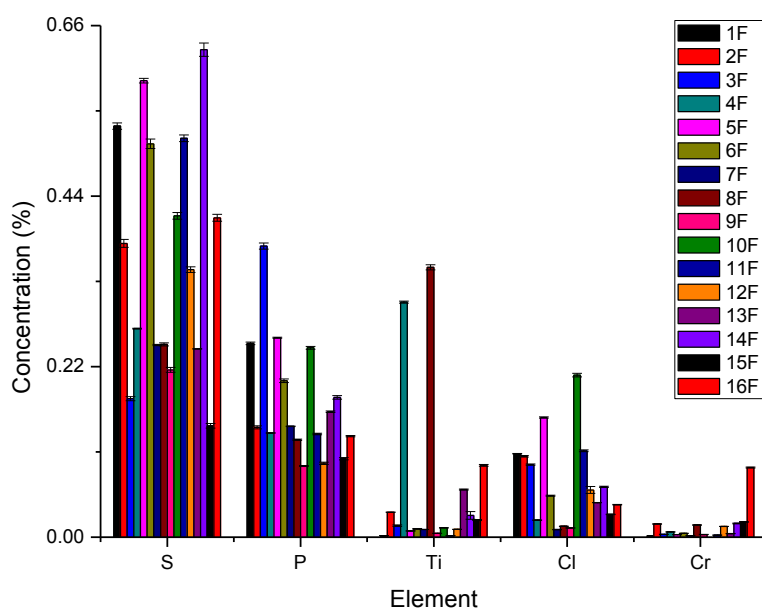


Figura 5- 2: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de helechos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos S, P, Ti, Cl y Cr.

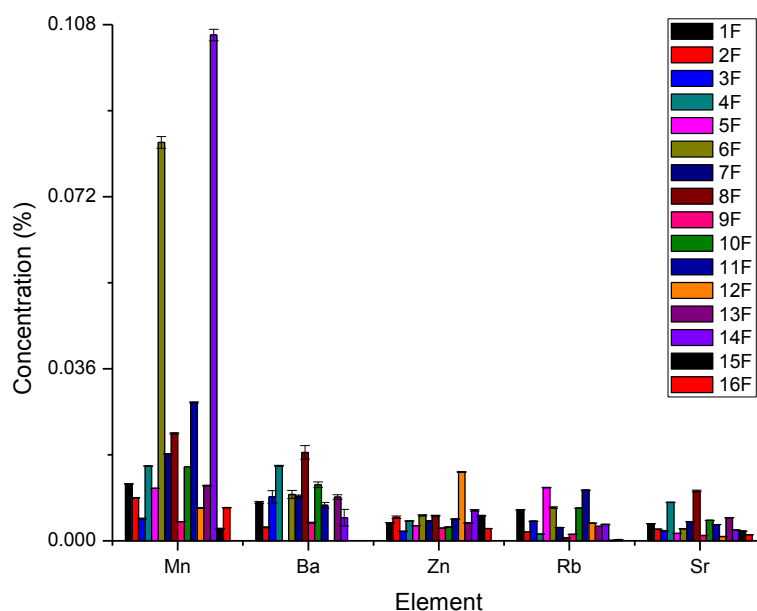


Figura 5- 3: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de helechos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Mn, Ba, Zn, Rb y Sr.

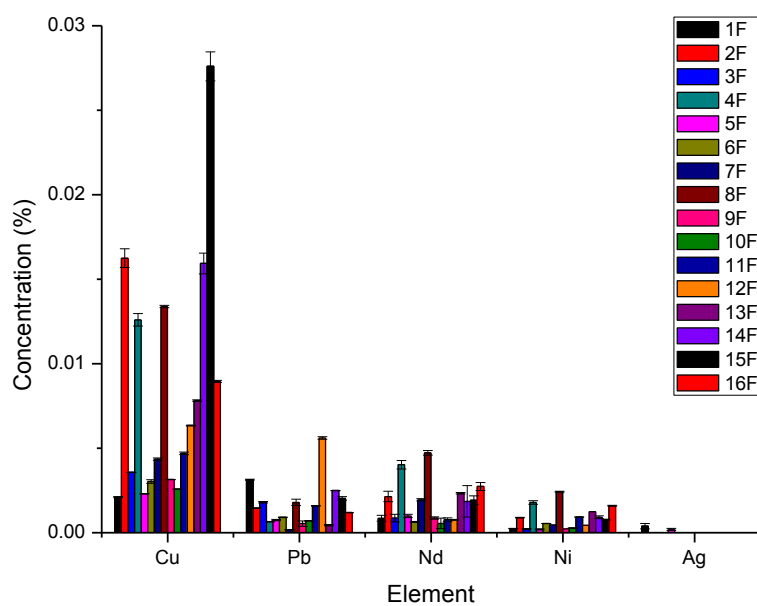


Figura 5- 4: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de helechos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Cu, Pb, Nd, Ni y Ag.

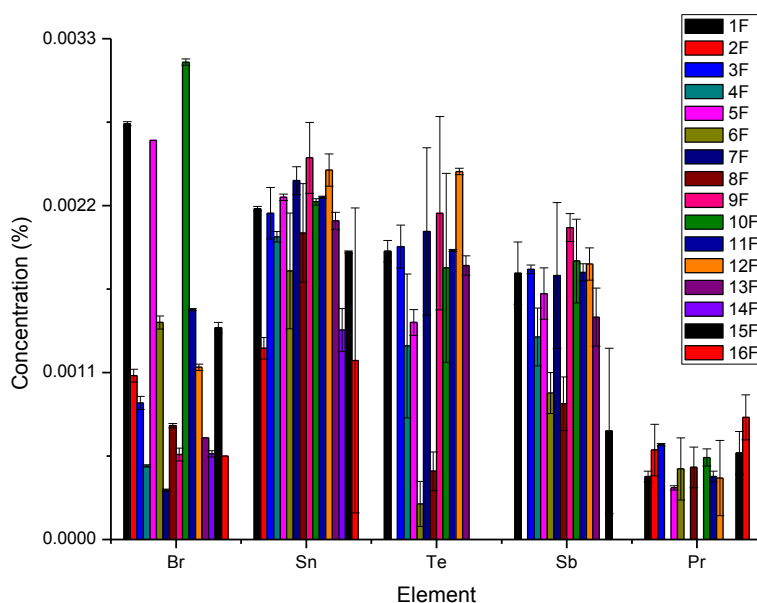


Figura 5- 5: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de helechos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Br, Sn, Te, Sb y Pr.

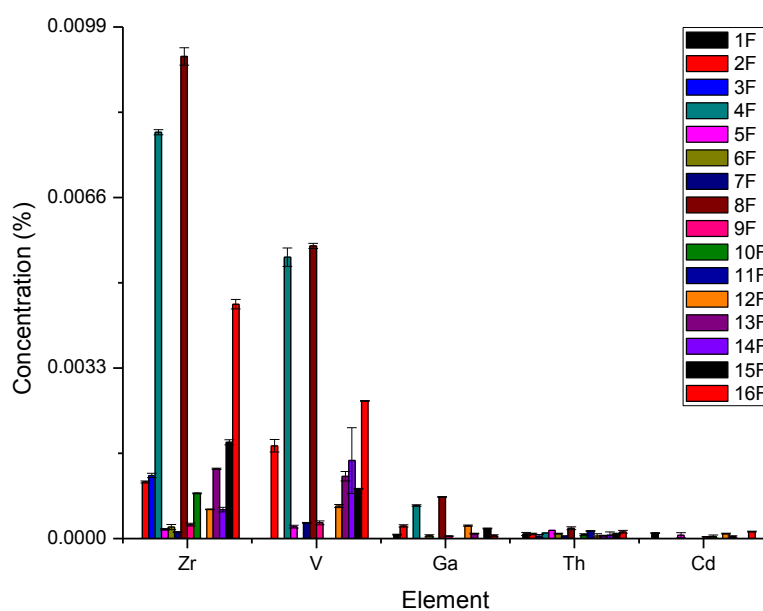


Figura 5- 6: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de helechos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Zn, V, Ga, Th y Cd.

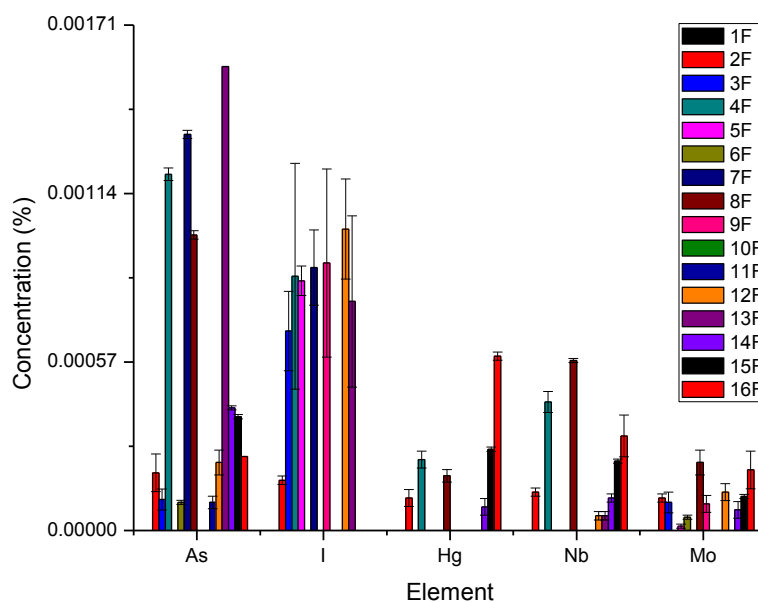


Figura 5- 7: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de helechos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos As, I, Hg, Nb y Mo.

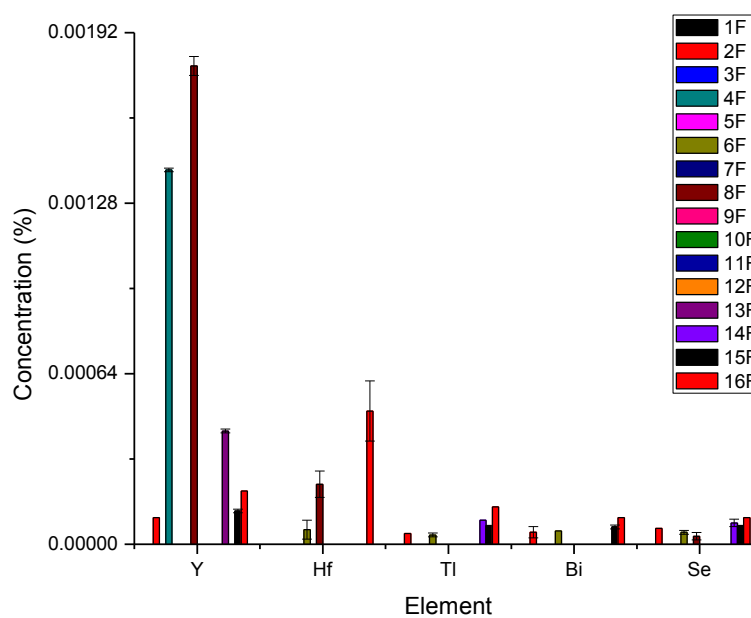
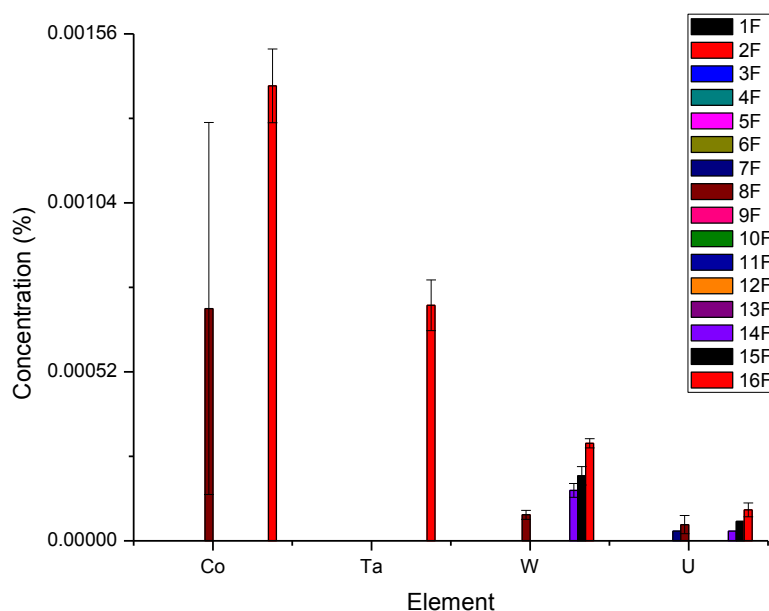


Figura 5- 8: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de helechos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Y, Hf, Tl, Bi y Se.



**Figura 5- 9: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de helechos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Co, Ta, W y U.**

Los cinco elementos traza de concentración más alta que se encuentran en las muestras de musgo son Si, Al, Fe, Ca y S; detalles para la concentración de los elementos son mostrados en las figuras 5-10 a 5-18; todas las especies de musgo tienen la capacidad única de recoger elementos específicos, ninguna especie de musgo tiene la capacidad para recoger todos los elementos en altas concentraciones. Curiosamente, los musgos tienen una concentración más alta en algunos elementos traza en comparación con los helechos (por ejemplo, Si, Al, Fe, etc.).

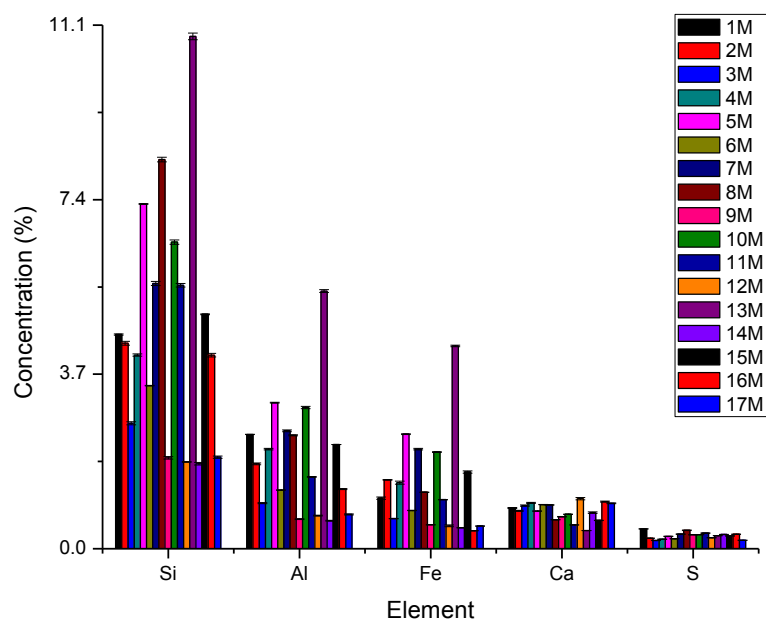


Figura 5- 10: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de musgos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Si, Al, Fe, Ca y S.

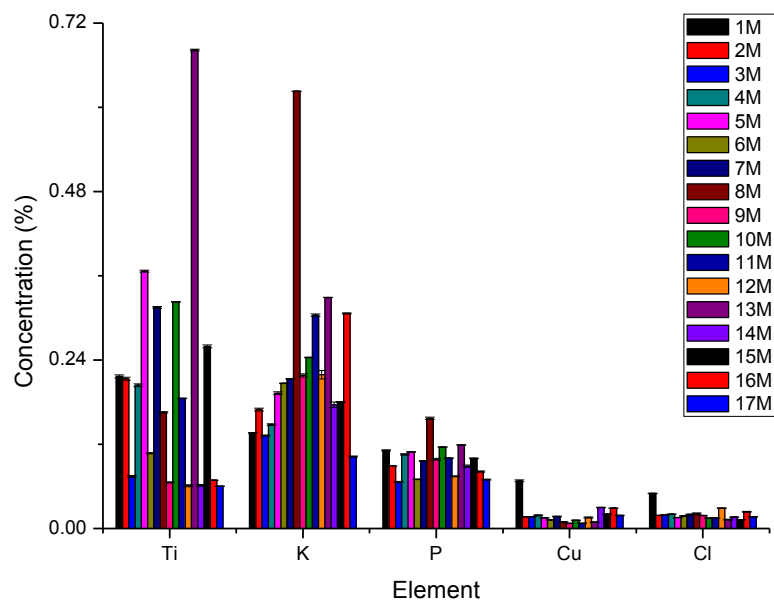


Figura 5- 11: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de musgos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Ti, K, P, Cu y Cl.

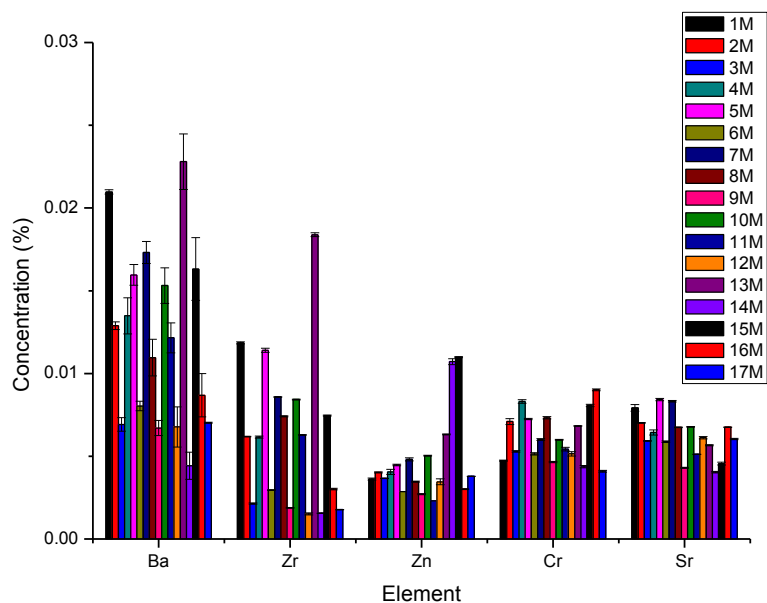


Figura 5- 12: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de musgos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Ba, Zr, Zn, Cr y Sr.



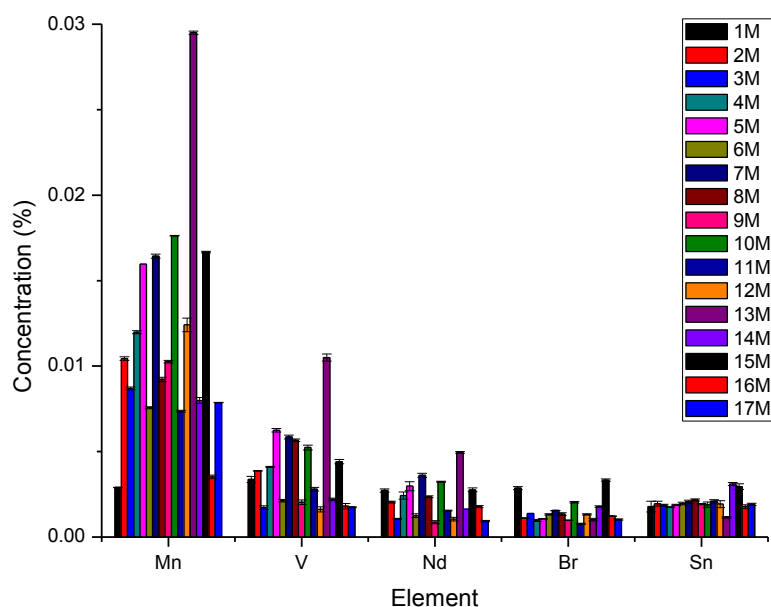


Figura 5- 13: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de musgos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Mn, V, Nd, Br y Sn.

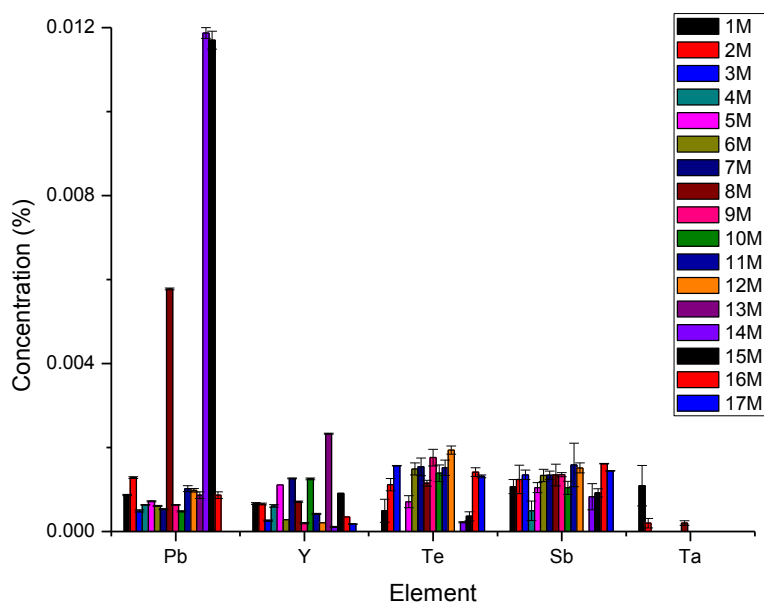


Figura 5- 14: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de musgos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Pb, Y, Te, Sb y Ta.

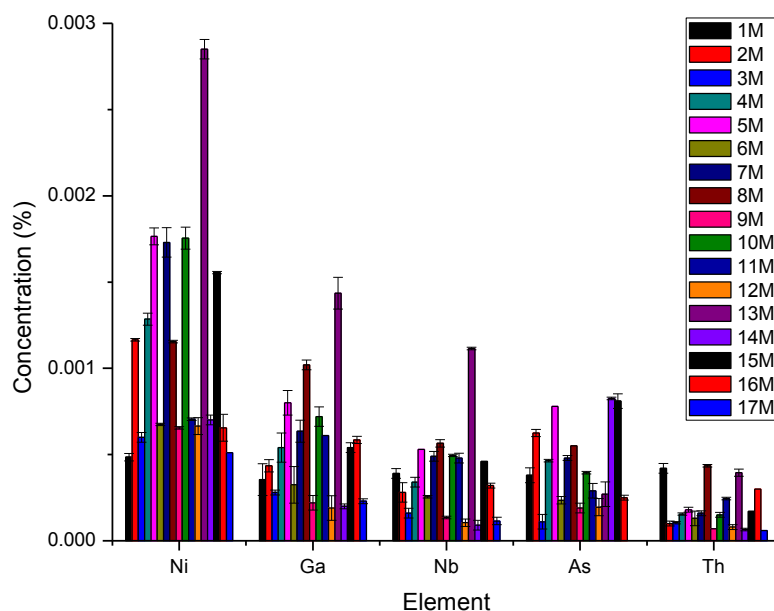


Figura 5- 15: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de musgos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Ni, Ga, Nb, As y Th.

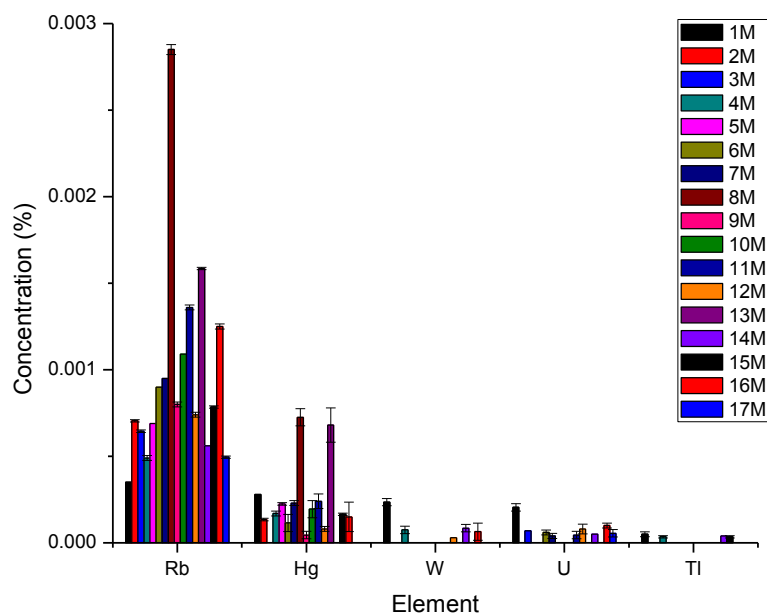


Figura 5- 16: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de musgos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Rb, Hg, W, U y Tl.

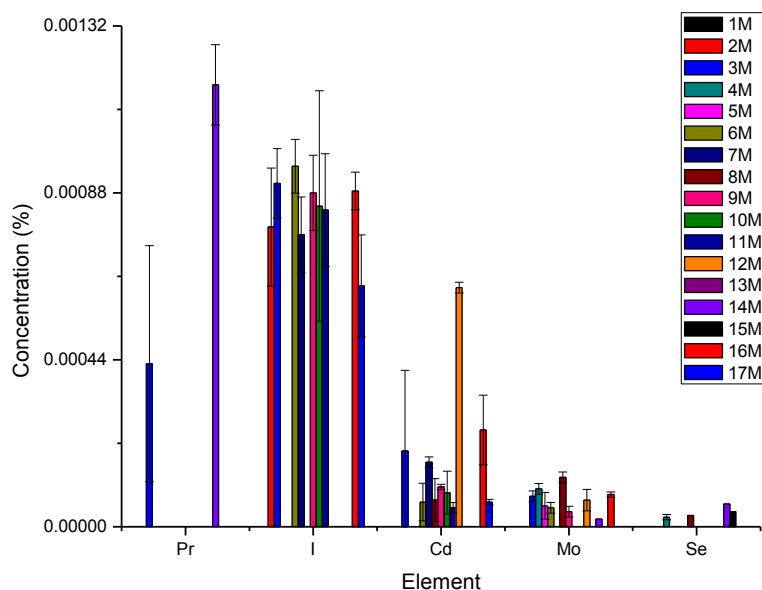


Figura 5- 17: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de musgos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Pr, I, Cd, Mo y Se.

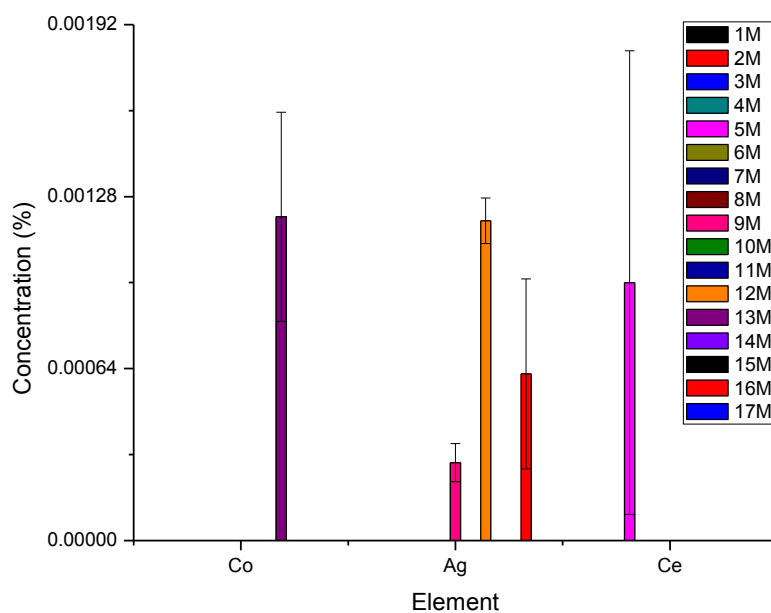


Figura 5- 18: Comparación de elementos traza para diferentes locaciones de muestras de musgos con los mismos elementos usando PEDXRF, elementos Co, Ag y Ce.

Los elementos que se han encontrado en muestras de helecho son más que los encontrados en las muestras de musgo; cuarenta y cuatro elementos se han encontrado en muestras de helecho, mientras que en las muestras de musgo se han encontrado cuarenta y tres elementos, y los elementos que se han encontrado en las muestras de helecho fueron clasificados de acuerdo con las concentraciones y son: Si, Al, Fe, K, Ca, S, P, Ti, Cl, Cr, Mn, Ba, Zn, Rb, Sr, Cu, Pb, Nd, Ni, Ag, Br, Sn, Te, Sb, Pr, Zr, V, Ga, Th, Cd, As, I, Hg, Nb, Mo, Si, Hf, Tl, Bi, Se, Co, Ta, W, y U, mientras que, en las muestras de musgo son Si, Al, Fe, Ca, S, Ti, K, P, Cu, Cl, Ba, Zr, Zn, Cr, Sr, Mn, V, Nd, Br, Sn, Pb, Y, Te, Sb, Ta, Ni, Ga, Nb, As, Th, Rb, Hg, W, U, Tl, Pr, I, Cd, Mo, Se, Co, Ag y CE. En efecto, los elementos han sido encontrados en las muestras de helechos y que no se encuentra en las muestras de musgo son Hf y Bi, mientras, que Ce se encuentra en las muestras de musgo y no en las muestras de helecho. Ciertamente, la clasificación de elementos de acuerdo con las concentraciones es diferente entre las muestras de helechos y musgos, y es diferente entre cada muestra en helecho o musgo; incluso dentro de las muestras de helecho la concentración elementos traza es diferente entre raíces, hojas y tallos.

Si, Al, Fe, Ti y Zr se han encontrado en mayor cantidad en la muestra de musgo 13M y la muestra de helecho 8F; además, la muestra del musgo 13M y la muestra de helecho 8F demuestran una gran habilidad para conjuntar todos los elementos que tengan concentraciones más altas, la concentración de Si en 13M =  $1.0860 \times 10^1 \pm 7.0711 \times 10^{-2} \%$  y 8F =  $7.8270 \pm 6.5054 \times 10^{-2} \%$ , la concentración de Al en 13M =  $5.4625 \pm 2.8991 \times 10^{-2} \%$  y 8F =  $3.1215 \pm 3.0406 \times 10^{-2} \%$ , la concentración de Fe en 13M =  $4.2995 \pm 1.7678 \times 10^{-2} \%$  y 8F =  $32.4805 \pm 3.6062 \times 10^{-2} \%$ , la concentración de Ti en 13M =  $6.8155 \times 10^{-1} \pm 1.3435 \times 10^{-3} \%$  y 8F =  $3.4820 \times 10^{-1} \pm 3.2527 \times 10^{-3} \%$ , y la concentración de Zr en 13M =  $61.8385 \times 10^{-2} \pm 1.2021 \times 10^{-40} \%$  y 8F =  $9.3300 \times 10^{-3} \pm 1.6971 \times 10^{-40} \%$ . Interesante concentración química de elementos traza fueron encontrados en las muestras de musgo y helechos, es decir, S, Pb, As, Hg y U; concentración de S en el 14F =  $6.2885 \times 10^{-1} \pm 8.5560 \times 10^{-3} \%$  y 1M =  $4.1950 \times 10^{-1} \pm 1.6971 \times 10^{-3} \%$ , concentración de Pb en 14M =  $1.1870 \times 10^{-2} \pm 1.2728 \times 10^{-4} \%$  y 12F =  $5.6050 \times 10^{-3} \pm 7.7782 \times 10^{-5} \%$ , así como concentración en 13F =  $1.5700 \times 10^{-3} \pm 0 \%$  y el 14M =  $8.2500 \times 10^{-4} \pm 7.0711 \times 10^{-6} \%$ , la concentración de Hg en 8M =  $7.2500 \times 10^{-4} \pm 4.9497 \times 10^{-5} \%$  y 16F =  $5.9000 \times 10^{-4} \pm 1.4142 \times 10^{-5} \%$ , y la concentración de U en 1M =  $2.0500 \times 10^{-4} \pm 2.1213 \times 10^{-5} \%$  y 16F =  $9.5000 \times 10^{-5} \pm 2.1213 \times 10^{-5} \%$ . Todas las especies de helechos o musgos tienen capacidad de acumular determinado elemento o más de un elemento, sin embargo, la edad de los helechos o musgos es importante para determinar la capacidad de acumulación de elementos, en nuestro trabajo, no hemos podido determinar la edad de los helechos y muestras de musgo.

ICP-OES se realizaron para las muestras de la mayoría de helechos y musgos; más aún, todos los análisis de muestras de musgo fueron hechos por ICP-OES, mientras que, el análisis de muestras de helecho realizado por ICP-OES fueron la mayoría, la pequeña

cantidad de biomasa y el peso ( $> 1$  g) para la raíz y especies de helechos raros limitan la capacidad de hacer más análisis. Los elementos traza químicos elegidos para el análisis son: Al, Fe, K, S, P, B y Pb; la mayor parte de los elementos elegidos son nutrientes importantes para las plantas, mientras que, Al y Pb no se consideran nutrientes; los detalles se muestran en la figura 5-19 y 5-20. En correlación, en el capítulo anterior del suelo, los sedimentos y el agua de muestras analizadas por ICP-OES no se encontró Pb, pero en dos muestras de musgo se encuentra Pb mas no así en las muestras de helechos.

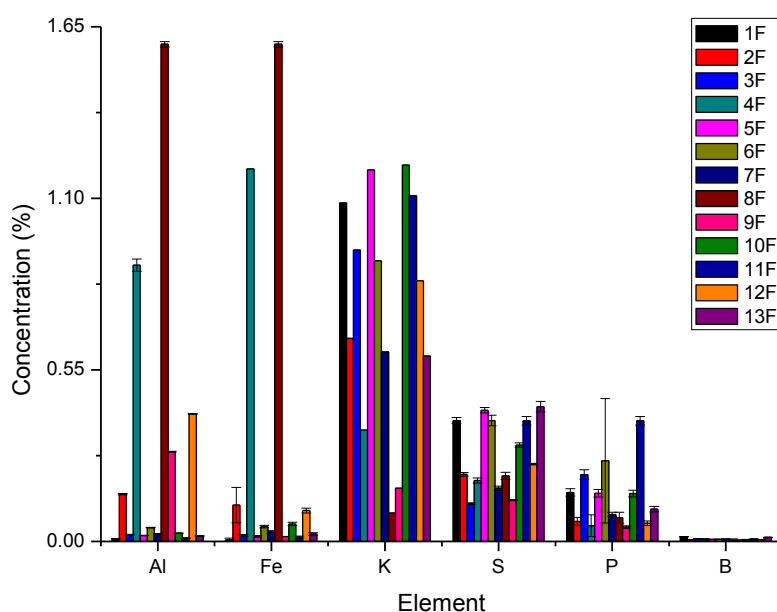


Figura 5- 19: Comparación de elementos traza de muestras de helechos de diferentes locaciones con los mismos elementos, utilizando ICP-OES, elementos Al, Fe, K, S, P y B.

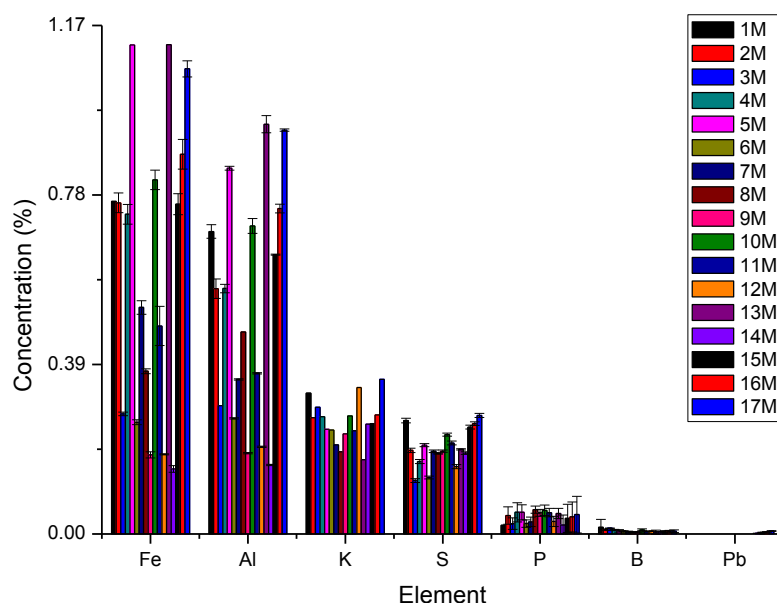


Figura 5- 20: Comparación de elementos traza de muestras de musgos de diferentes locaciones con los mismos elementos, utilizando ICP-OES, elementos Fe, Al, K, S, P, B y Pb.

Hay una diferencia fundamental entre el material vegetal y animal orgánico del suelo o matrices de sedimento; muestras de tejido vegetal consisten principalmente de carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno. Otros elementos abundantes son K, Mg, Ca, P y S (macronutrientes), los elementos se encuentran en concentraciones relativamente altas en las plantas y se miden en porcentajes (%). Estos cinco elementos representan menos del 10% de una muestra sobre una base de peso en seco. De hecho, el método de digestión ácida de ICP-OES es incompleto para plantas de tejidos. Ratio (ICP-OES/PEDXRF) de la comparación de concentración para muestras de helechos y musgo de diferentes lugares con los mismos elementos se muestran en las figuras 5-21 y 5-22.

Como resultado, la relación de (ICP-OES / PEDXRF) de la concentración dio diferencia entre ICP-OES y PEDXRF. Elementos estrechamente asociados con los materiales silíceos, tales como Al, Fe y Na no pueden estar completamente liberados de material sólido a la solución. Por lo tanto, los resultados por ICP-OES no son directamente comparables con los resultados por PEDXRF; los métodos de PEDXRF analizan la concentración total de las muestras de análisis sin necesidad de digestión de las muestras, y que, los métodos ICP-OES analizan los elementos en el ácido digerido. Sin embargo, este problema podría ser significativo sólo en casos limitados, en nuestro trabajo, no hay una buena compatibilidad entre PEDXRF e ICP-OES.

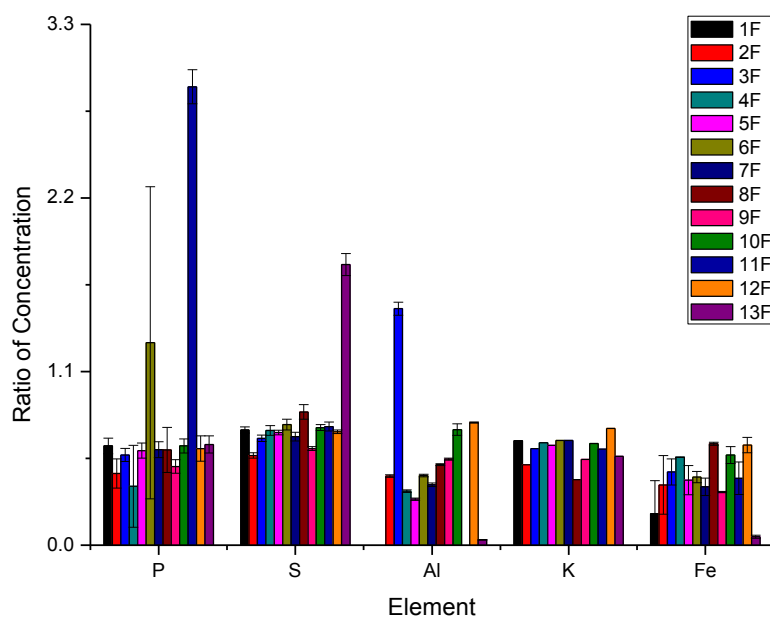


Figura 5- 21: Comparación de la proporción de la concentración (ICP-OES/PEDXRF) para muestras de helecho de diferentes locaciones con los mismos elementos, elementos P, S, Al, K y Fe.

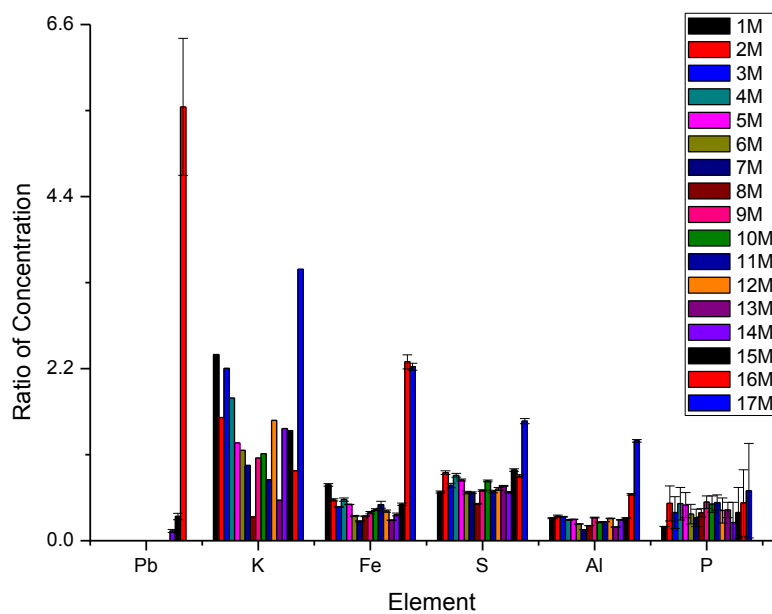


Figura 5- 22: Comparación de la proporción de la concentración (ICP-OES/PEDXRF) para muestras de helecho de diferentes locaciones con los mismos elementos, elementos Pb, K, Fe, S, Al y P.

## 5.4. CONCLUSIONES

Los métodos optimizados de análisis de PEDXRF fueron verificados para la determinación de los elementos trazas diferentes y mayores para muestras de helechos y musgos. La combinación de excitación selectiva (usando diferentes y adecuados objetivos secundarios) y la reducción del fondo de los espectros de rayos X cuando se utiliza haz polarizado EDXRF e instrumentación de rayos x (PEDXRF) conduce a una mejora significativa en la sensibilidad alcanzada para los elementos traza en muestras vegetales.

La simplicidad de la preparación de la muestra hace de PEDXRF una técnica prometedora en el campo de la fitorremediación. En efecto, los procedimientos analíticos para la determinación elemental en los tejidos de la planta deben de ser rápidos, baratos, con la preparación simple de muestras, y de la precisión y reproducibilidad adecuada.

ICP-OES es muy preciso y potente para el análisis de muestras líquidas, sin embargo, la digestión ácida incompleta reduce la concentración de elementos trazas disponibles en las muestras vegetales. El procedimiento es complejo para la preparación de muestras de ICP-OES en comparación con el PEDXRF, el principal inconveniente para el PEDXRF comparado con el ICP-OES es el peso grande necesario en comparación con el ICP-OES.

Las plantas hiper-acumuladoras fueron encontradas en Los Azufres, por ejemplo, el Pb se ha encontrado en algunas muestras de musgo, mientras que no se ha encontrado en el suelo, sedimentos, agua y muestras de helechos utilizando ICP-OES.

Las plantas hiper-acumuladoras prometen ser una nueva técnica para la limpieza del medio ambiente. Aunque la fitorremediación funciona de manera efectiva para una amplia gama de contaminantes inorgánicos, los procesos biológicos subyacentes siguen siendo en gran medida desconocidos en muchos casos. Por desgracia, sabemos muy poco sobre los mecanismos de las plantas (biológicos) que participan en la fitorremediación, y todavía es incipiente, la necesidad de investigación para entender las plantas hiper-acumuladoras.

La biomasa, la limitación de la raíz y la acumulación de elementos específicos son los límites de las plantas hiper-acumuladoras para limpiar el medio ambiente. Algunos procesos importantes que requieren mayor estudio son las interacciones planta-microorganismo y los efectos de los quelatos de las plantas y de la comunidad microbiana del suelo, de todos modos, nuestra comprensión de las plantas hiper-acumuladores irá aumentando con el tiempo.

Las condiciones geotérmicas quizá imitan la Tierra temprana y otros planetas, las plantas cambian las condiciones de la Tierra para ser habitable, estas plantas que viven en fuentes termales y fumarolas imitan a las plantas primitivas que estaban disponibles en la Tierra primitiva, condiciones ecológicas extremas (es decir, de alta temperatura, baja



presión, humedad relativa variable y presencia de gases atmosféricos inusuales como  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{SO}_2$ ,  $\text{CO}_2$ , He, etc.), cerca de las aguas termales y fumarolas, todo esto último imita a la Tierra temprana y otros planetas.

## CAPÍTULO 6: CONCLUSIONES

La espectrometría de polarización de energía dispersiva de fluorescencia de rayos X (PEDXRF) no es destructiva y cuenta con un rápido rendimiento y la preparación de muestras es sencilla, donde una amplia gama de elementos desde Na a U se caracterizan simultáneamente, y sensiblemente. Posibles desventajas están relacionadas con las interferencias espectrales de ciertos elementos y la sensibilidad es más pobre de los elementos más ligeros, con los componentes peligrosos de número atómico inferior a Na, tales como el Be no son detectados. Sin embargo, las mejoras recientes basadas en campo en EDXRF han superado potencialmente muchos de estos problemas. Detectores de Si(Li) de alta resolución han mejorado dramáticamente resolución de energía, reduciendo de ese modo las interferencias espectrales. El desarrollo de los ordenadores personales con alta velocidad y la memoria también ha permitido algoritmos de los parámetros fundamentales para llevar a cabo rápidamente el uso de múltiples normas, lo que resulta en una rápida y más precisa la estandarización y el análisis de componentes múltiples y matrices complejas [104].

TURBOQUANT es la marca de un método SPECTRO que se utiliza para el análisis de cribado. El método es capaz de analizar los elementos desde Na hasta U en muestras totalmente desconocidas, todos los efectos de la matriz que se producirán son tomados en cuenta (SPECTEROXEPOS Manual de usuario III); TURBOQUANT permite el análisis cuantitativo y cualitativo.

Las pastillas producidas dieron el mejor factor de exactitud y precisión en comparación con las muestras de polvo; el diámetro de las pastillas de 25 mm han dado el mejor factor de exactitud y precisión en comparación con cualquier otra pastilla y diámetros del receptáculo de muestra; aglutinante en gránulos deprecia el factor de precisión; el aglutinante (hecho de elementos ligeros ) aumenta el espesor y la dispersión, la desventaja principal de las pastillas son el mucho tiempo invertido en ellas. Una muestra de 15 mm de diámetro de la taza se ha dado el mejor factor de exactitud y precisión en comparación con otros diámetros del receptáculo de muestra y, además, de copas de muestra 15 mm (en polvo) dio una mayor precisión que pastillas con cera (o aglutinante).

La principal ventaja de los métodos de PEDXRF es la capacidad de análisis de las muestras en polvo. La simplicidad de la preparación de la muestra hace de PEDXRF una técnica prometedora en el campo del medio ambiente. En efecto, los procedimientos analíticos para la determinación elemental en los tejidos de la planta deben de ser rápidos, baratos, con la preparación simple de muestras, de fácil reproducibilidad y precisión adecuada.

Los métodos de análisis optimizados de PEDXRF fueron verificadas para la determinación de los diferentes elementos mayores y traza para suelos, sedimentos, helechos y muestras de musgos. La combinación de excitación selectiva (usando diferentes y adecuados objetivos secundarios) y la reducción del fondo de los espectros de rayos X cuando se utiliza haz polarizado de rayos X EDXRF (PEDXRF) la instrumentación conduce a una mejora significativa en la sensibilidad alcanzada para elementos traza en muestras vegetales.

La expectativa futura es que la mejora de los instrumentos XRF podría aumentar la sensibilidad del mismo, de modo que la espectrometría de fluorescencia de rayos X podría ofrecer nuevas posibilidades en el campo del medio ambiente y la industria en los próximos años.

La Espectrometría de Emisión Óptica Plasma de Acoplamiento Inductivo - (ICP-OES) es una de las herramientas analíticas más potentes y populares para la determinación de elementos traza en una gran variedad de tipos de muestras. La instrumentación asociada con un sistema de ICP-OES es relativamente simple [102].

Los análisis de ICP-OES requieren que la muestra sea en solución; esto se puede lograr ya sea por un ataque ácido combinado empleando HF, HNO<sub>3</sub>, y ácidos HCl. El procedimiento de digestión ácido también da lugar a menudo en el análisis incompleto de elementos refractarios, tales como Ti, Cr, Zr y debido a que sus minerales huéspedes son a menudo difíciles de disolver [43]. Los elementos estrechamente asociados con los materiales silíceos, tales como Al, Fe y Na no pueden estar completamente liberados de material sólido a la solución. La digestión incompleta de ácido reduce la concentración de elementos trazas disponibles en las muestras vegetales.

Los métodos PEDXRF no se comparan directamente con los métodos de ICP-OES; Los métodos de de PEDXRF analizan las cantidades totales del analito, mientras que el método de ICP-OES es dar análisis sólo la lábil en componentes del analito en ácido nítrico, adsorbidos, o elementos móviles. Los métodos de ICP-OES analizan los elementos adsorbidos de muestras del suelo y sedimentos. ICP-OES tiene una gran ventaja en la medición de muestras líquidas, esa capacidad se considera que fue la ventaja más importante de los métodos de ICP-OES.

Las áreas cercanas a las fumarolas y aguas termales tienen una mayor concentración de elementos traza en suelos, sedimentos y agua en comparación con otras áreas. Cada sitio cuenta con diferentes concentraciones de elementos traza, y esa capacidad única enriquece la vida de plantas y animales. Las propiedades únicas de composición de elementos traza en fumarolas y aguas termales proporcionan nutrientes y fertilizantes necesarios para las plantas. Las fumarolas y aguas termales son necesarias para enriquecer la vida natural de las plantas y los animales.

Los suelos a lo largo de las áreas geotérmicas se consideran pobres para el crecimiento de la mayoría de las plantas debido a su bajo pH, su infertilidad, y los niveles inusualmente altos de elementos traza [111]. La capacidad de las comunidades de plantas geotérmicas para crecer en suelos pobres en nutrientes y con alto niveles tóxicos de algunos elementos es muy interesante.

Las plantas hiper-acumuladoras ocupan particularmente altas cantidades de una sustancia tóxica, por lo general un metal o metaloide, en sus brotes durante el crecimiento y la reproducción normal. La concentración de metal / metaloide que debe ser acumulado por la planta antes de que sea designada una planta de hiper-acumulación depende del metal o metaloide particular en cuestión. Sin embargo, la hiper-acumulación se refiere a la capacidad natural de ciertas plantas que describen un nivel altamente anormal de acumulación de metales, incluso algunos metales que no parecen ser necesarios para el funcionamiento de plantas [69]. Plantas hiper-acumulador se definen convencionalmente como especies capaces de acumular metales a niveles de 100 veces mayores que las que normalmente se mide en plantas comunes no-acumuladoras [122]. La mayoría de las especies de plantas hiper-acumuladoras son capaces de acumular entre 1-5% de su biomasa como metal [123].

Las plantas hiper-acumuladoras son taxonómicamente expandidas en todo el reino vegetal. Estas plantas de hiper-acumulación prometen ser una nueva técnica para la limpieza del medio ambiente, aunque la fitorremediación ya funciona de manera efectiva para una amplia gama de contaminantes inorgánicos. Como se ha dicho, encontramos plantas hiper-acumuladoras de Los Azufres, es decir, en muestras de suelo, sedimentos, agua y helechos no se encontró Pb utilizando ICP-OES, pero se ha encontrado Pb en dos muestras de musgo, que significa que estos dos musgos tienen capacidad de acumular Pb, incluso si el suelo no tiene o en el elemento del Pb es ultra-traza. Estos resultados nos muestran la gran capacidad de las plantas de hiper-acumulación, las cuales pueden ser muy útiles para limpiar el medio ambiente, y facilitar la recolección de los elementos valorados. Todos los helechos y el musgo tienen capacidad para recoger uno o más elementos específicos.

Los procesos biológicos aún no se conocen en muchos casos para las plantas de hiper-acumulación. Algunos procesos importantes que requieren mayor estudio son las interacciones planta-microorganismo y los efectos de los quelatos de las plantas y de la comunidad microbiana del suelo, los mecanismos de degradación de materia orgánica de plantas y su transporte y mecanismos de quelación para las sustancias inorgánicas. De cualquier modo, nuestra comprensión de las plantas hiper-acumuladoras aumenta con el tiempo.

Condiciones geotérmicas quizá imitan la Tierra temprana y otros planetas, las plantas cambian las condiciones de la Tierra para ser habitables, estas plantas que viven cerca y en los respiraderos de fumarolas y aguas termales (áreas geotérmicas) imitan a las plantas primitivas que estaban disponibles en la Tierra primitiva; condiciones ecológicas extremas (es decir, de alta temperatura, baja presión, humedad relativa variable y presencia de inusuales gases atmosféricos es decir,  $H_2S$ ,  $SO_2$ ,  $CO_2$ , He, etc.) cerca de las fumarolas y aguas termales quizás imitan la Tierra temprana y otros planetas.

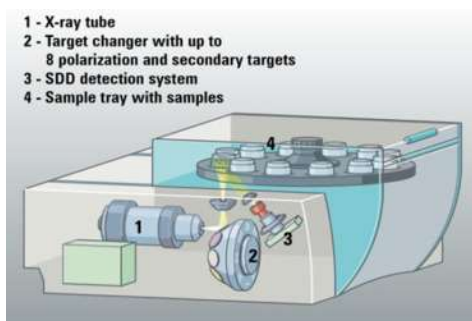
## ANEXOS

### ANEXO 1: SPECTRO XEPOS III

La Espectrometría de Polarización de Energía Dispersiva de Fluorescencia de Rayos X (PEDXRF) se utiliza rutinariamente para la investigación de una amplia variedad de materiales tales como minerales, el suelo, las rocas, escorias, cerámicas, metales, aleaciones, alimentos, productos farmacéuticos, combustibles, etc., y los instrumentos de Fluorescencia de X-Ray, XRF están encontrándose en un mayor uso en los estudios ambientales. Las ventajas incluyen la fácil preparación de la muestra y el funcionamiento del instrumento, que hacen que la técnica también es conveniente para dichas aplicaciones [80 y 124]. En efecto, PEDXRF podría analizar las muestras sólidas sin necesidad de estar en forma líquida o digerida. Así XRF se convierte en la herramienta universal en laboratorios analíticos. No hay prácticamente ningún campo de la industria o de la aplicación en la que no vale la pena considerar el uso de la técnica de análisis de XRF.

La Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X es una herramienta común para el análisis altamente preciso, para análisis reproducibles y precisos y no destructivos de elementos [77 y 21]; el método se utiliza de forma rutinaria para el análisis de alta resolución [77]. Una de las ventajas más importantes de PEDXRF es el análisis simultáneo de elementos desde Na hasta U; la radiación primaria dispersada en la muestra se registra simultáneamente con la señal de fluorescencia. En la práctica, la muestra se excita varias veces. Las sensibilidades y los límites de detección obtenidos con excitación directa podrían mejorarse hasta un orden de magnitud mediante el uso de radiación polarizada para la excitación de trazas en matrices de luz. El fenómeno de la polarización, examinado por primera vez por Barkla, se ha utilizado y mejorado continuamente desde el comienzo de los años 70 [27].

Las características de SPECTRO XEPOS III, Spectro Analytical Instruments GmbH, Kleve, Alemania consistirá (figura A-1) del tubo de rayos X a partir de Pd (Palladium) de máximo 50 vatios, 50 kV de voltaje, punto focal de 1mm<sup>2</sup>, Silicon Drift Si(Li) de alto rendimiento, detector (SDD) con refrigeración Peltier (refrigeración eléctricamente), 8 objetivos secundarios: Mo, Co, Zn, Zr, Pd, CSI, HOPG (grafito pirolítico altamente orientado) y Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (óxido de aluminio) y el sistema de sofocación (o de purga) por He.



**Figura A- 1:** El principio de SPECTRO XEPOS III y partes principales; tubo ortogonal de x-ray, objetivo secundario, configuración de la muestra y detector para producir x-ray polarizados.

## ANEXO 2: TURBOQUANT

TURBOQUANT es la marca de un método SPECTRO que se utiliza para el análisis de cribado. El método es capaz de analizar los elementos desde Na hasta U en muestras completamente desconocidas. Esto significa que todos los efectos de la matriz que se producirán son tomados en cuenta, la única distinción es hecha entre sólidos (polvo y pastillas), líquidos y aleaciones, y hay un programa separado para cada uno [manual del usuario SPECTRO XEPOS III].

El espectrómetro PEDXRF permite el análisis directo (no estandarizado) a través de la rutina de los parámetros fundamentales. Mejoras en el software analítico basado en el enfoque de los parámetros fundamentales han significado que las exactitudes y precisiones también han mejorado para el análisis menos estandarizado, [Manual de usuario SPECTRO XEPOS III].

TURBOQUANT usa una combinación de objetivos que consiste en un HOPG (grafito pirolítico altamente orientado) cristal Bragg,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  dispersor Barkla y objetivo secundario Mo para la excitación de los elementos desde Na hasta U [27]. La excitación de todos los elementos Na-U se divide en tres mediciones individuales utilizando diferentes objetivos. Los elementos ligeros Na-V están excitados con un objetivo HOPG (rayos X polarizados monocromáticos intensos). Los elementos Cr-Zr y Pr-U están excitados con un objetivo secundario Mo (rayos X polarizados no monocromáticos intensos). Los elementos de alta energía Y-Ce están excitados con un objetivo Barkla  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (rayos X polarizados policromáticos intensos) [Manual de usuario SPECTRO XEPOS III].



### ANEXO 3: MOLINO MEZCLADOR MM 400

La Fluorescencia de Rayos X XRF es una técnica poderosa, pero que requiere de una muestra que es totalmente representativa y básica para el tamaño de partícula correcto (<100 micras) utilizando métodos que no cambie las características del material ni añada elementos traza no deseados.

La reproducibilidad de muestras sólidas depende directamente del tamaño de partícula y la densidad de la muestra preparada. En fluorescencia de rayos X, la intensidad de los rayos X dispersados es indicadora de la cantidad de un elemento. Si la muestra es demasiado gruesa, los rayos x son fuertemente dispersados por las partículas, lo que lleva a un aumento de la intensidad, independientemente de la cantidad real del elemento. Por lo tanto, es de gran importancia para el análisis cuantitativo reproducible, que se consiga el grado requerido de homogeneización y la distribución del tamaño se mantenga constante de una muestra a otra.

Molinos mezcladores MM 400, Retsch GmbH, Haan, Alemania (figura A-2) han sido desarrollados especialmente para la molienda, homogeneización y mezcla de pequeñas cantidades de muestra de manera rápida y eficiente. Además, se está proporcionando la capacidad para producir muestras precisas, reproducibles y libres de contaminación para fluorescencia de rayos X con un mínimo de tiempo y esfuerzo. Así también está funcionando de manera tan eficaz que la muestra difícilmente se calienta, todo debido a que el tiempo de molienda es muy corto. Por lo tanto la mayoría de los materiales pueden ser pulverizados y mezclados a temperatura ambiente, sin ningún tipo de refrigeración. La intensidad de vibración se puede ajustar con precisión de 3 a 30 hercios (Hz); con una frecuencia de vibración de 30 Hz muele la mayoría de los materiales de manera muy eficaz en pocos minutos. Por lo tanto, gran cantidad de muestras debido a los tiempos cortos de molienda [manual del usuario de Molinos mezcladores MM400].



Figura A- 2: Molino Mezclador MM 400.

Molino mezclador MM 400 puede ser equipado con herramientas molidoras de diversos materiales que permitan la preparación de la muestra y sin contaminación con respecto a los elementos a ser determinados. Además, hay gran gama disponible capacidad de recipientes de molienda con diferentes diámetros de pelotas [manual de molino mezclador MM del usuario 400].

Los recipientes de molienda realizan oscilaciones en una posición horizontal (Figura A-3). La inercia de las pelotas de molienda causa que impacten con alta energía en el material de muestra a los extremos redondeados de los recipientes de molienda y los pulveriza. Además, el movimiento de los recipientes de molienda combinada con el movimiento de las pelotas dan como resultado la mezcla intensiva de la muestra [Manual del usuario de molinos mezcladores MM 400].



Figura A- 3: Oscilaciones en posición horizontal para las pelotas y jarras molidoras.

**ANEXO 4: CRIBA**

Tamiz (Figura A-4) definido como utensilio de malla de alambre o de metal de cerca perforada, que se utiliza para tamizar [125 y 126]. Un tamiz separa las partículas grandes o más gruesas de unas partículas pequeñas o bien, líquidos. El tamizado es una técnica simple y conveniente para separar partículas de diferentes tamaños [127].



Figura A- 4: Tamices de diferente tamaño de hoyos.

**ANEXO 5: MORTERO Y PISTILO**

El mortero es un recipiente, por lo general de cerámica (figura A-5). El pistilo es un objeto pesado en forma de mazo, la punta del cual es utilizado para la trituración y la molienda. La sustancia a ser molida se coloca en el fondo del mortero y se aplasta o se mezcla con el pistilo. Un buen mortero y pistilo deben de ser lo suficientemente fuertes para aplastar la sustancia en lugar de ser desgastados por el mismo. No pueden ser demasiado frágiles o bien, o que se rompa durante el machacar y moler. El material también debe ser cohesivo, de modo que los pequeños trozos de mortero o pistilo no se mezclen con los ingredientes. Materiales lisos y no porosos se eligen para que no se absorban o atrapen las sustancias siendo tierra [128].



**Figura A- 5: Mortero y Pistilo.**

### ANEXO 6: ¿CÓMO FUNCIONA LA PRENSA HIDRÁULICA?

Una prensa hidráulica (figura A-6) es una máquina que utiliza un cilindro hidráulico para generar una fuerza de compresión [129]; la prensa hidráulica es utilizada para diversos fines, tales como la compactación de polvo, etc. Como la prensa hidráulica funciona sobre la base de la ley de Pascal: la presión a lo largo de un sistema cerrado es constante. Una prensa hidráulica se compone de los componentes básicos utilizados en un sistema hidráulico que incluye el cilindro, pistones, tubos hidráulicos, etc. El funcionamiento de esta prensa es muy simple. El sistema se compone de dos cilindros (Figura A-7), el fluido (generalmente aceite) se vierte en el cilindro que tiene un diámetro pequeño. Este cilindro se conoce como el cilindro esclavo [129 y 130].



Figura A- 6: Prensa hidráulica.

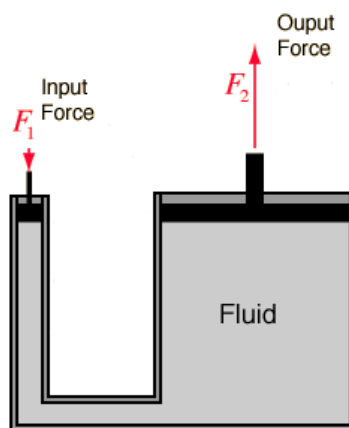


Figura A- 7: Principio de la prensa hidráulica.

El pistón de este cilindro se empuja de modo que comprime el fluido que en ella fluye a través de un tubo en el cilindro más grande. El cilindro más grande se conoce como el cilindro maestro. La presión se ejerce sobre el cilindro más grande y el pistón en el cilindro maestro empuja el fluido de vuelta al cilindro original, [130].

Un fluido, tal como aceite, se desplaza cada vez que el pistón es empujado hacia el interior. El pequeño pistón, para una distancia dada de movimiento, desplaza una menor cantidad de volumen que el pistón grande, que es proporcional a la relación de las áreas de las cabezas de los pistones. Por lo tanto, el pistón pequeño debe desplazarse una gran distancia para lograr que el pistón grande se mueva de manera significativa. La distancia que el pistón grande se moverá es igual a la distancia que el pequeño pistón se mueve dividido por la relación de las áreas de las cabezas de los pistones. Así es como la energía, en forma de trabajo, en este caso, se conserva y la ley de conservación de la energía se satisface. El trabajo es la fuerza, el tiempo y la distancia, y puesto que la fuerza se incrementa en el pistón más grande, la distancia de la fuerza se aplica debe ser disminuida [129].

La fuerza aplicada en los fluidos por los cilindros más pequeños resulta en una fuerza mayor cuando se empuja en el cilindro maestro. Esto permite el levantamiento de una carga pesada con una pequeña fuerza [130].

## ANEXO 7: LA PRODUCCIÓN DE PASTILLAS

Para la mayoría de las aplicaciones de XRF se utilizan pastillas con una superficie plana (figura A-8). En contraste con polvo suelto, una pastilla tiene la ventaja de que la concentración detectada por el elemento de rayos x es mayor debido a que el material es más compacto. Además, una superficie lisa es preferible a una áspera desde un punto de vista óptico. Por lo general, las pastillas se producen ya sea por fusión de la muestra con sal o presionando la muestra. La fusión de la muestra con litiotetraborato es un método muy eficaz para producir un cordón; fundir no se utiliza cuando los elementos a analizar sean volátiles, pues podrían evaporarse durante el proceso de fusión.



Figura A- 8: Pastilla.

Cuando el material de la muestra no se adhiere adecuadamente, la adición de agentes de unión o aglutinantes tales como la cera a menudo se requiere (figura A-9 y A-10). Se añade la cera después de que la muestra ha sido molida, ya sea manualmente (mortero y mano de mortero) o mediante la mezcla, con la ayuda de pelotas de poliamida en un frasco de plástico en el molino mezclador MM 400. La adición de la cera hace de la superficie de la pastilla indeleble. Por otra parte, la cera es más barata y no higroscópica que es importante si los gránulos se van a almacenar.



Figura A- 9: Procedimiento para hacer una pastilla sin cera.

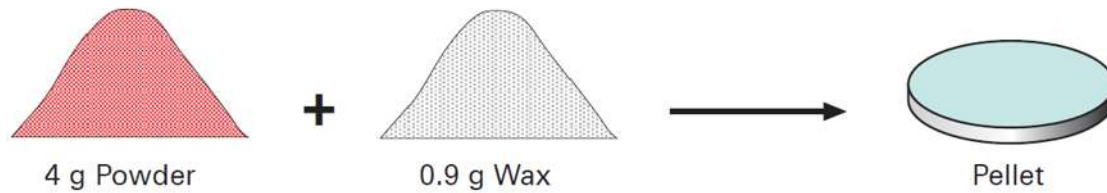


Figura A- 10: Procedimiento para hacer una pastille con cera.

Un die de muestreo (figura A-11) y presión (figura A-6) para la compactación de una muestra de polvo se revelan. La invención también incluye una prensa adaptada para la compactación de una muestra de polvo contenido dentro de la cavidad del molde de un molde que sirve tanto como un contenedor de toma de muestras para el polvo y como un molde para la compactación del polvo.



Figura A- 11: Dado diámetro de 25mm.



## ANEXO 8: MUSGO

El musgo (figura A-12) es un tipo muy simple de planta que carece de raíces tradicionales, tallos y hojas, y su absorción de agua y nutrientes es principalmente a través de sus hojas y cosecha la luz del sol para crear su alimento por medio de la fotosíntesis. En efecto, no tienen raíces adecuadas, pero tienen filiforme (rizoides) que les ancla a su sustrato [131]. El nombre se refiere a cualquier especie de la clase Bryopsida y forma parte de la división Bryophyta. Bryophyta significa: primeras plantas terrestres verdes desarrolladas durante el proceso evolutivo [132]. Hay aproximadamente 12.000 especies de musgo clasificadas en el Bryophyta [131].

Los musgos son plantas pequeñas y suaves que son típicamente de 1-10 cm de altura, aunque algunas especies son mucho más grandes, como los del tipo Dawsonia, el musgo más alto del mundo que puede crecer hasta 50 cm de altura. Que comúnmente crecen juntos en macizos o alfombrillas en lugares húmedos o sombra. No tienen flores o semillas, y sus hojas simples cubren los troncos nervudos finos. En cierto momento, los musgos producen cápsulas de esporas que pueden aparecer como cápsulas en pico llevados sobre tallos delgados [131].

A falta de estructuras vasculares tradicionales de hojas verdaderas, tallos y raíces, el crecimiento del musgo se limita a lugares húmedos. Por lo general, es muy resistente y crece en casi todas partes, excepto en el mar. En general, es de poca utilidad para los seres humanos o animales, aunque a veces se come en tiempos de hambre [132 y 133].

Los musgos son bioindicadores muy sensibles de metales pesados y la contaminación en el medio ambiente. En efecto, el musgo es utilizado para la topografía de deposición atmosférica de metales pesados [134].



Figura A- 12: Musgo.

**ANEXO 9: HELECHO**

El helecho (figura A-13) puede ser cualquiera de un grupo de cerca de 12.000 especies de plantas pertenecientes al grupo botánico conocido como Pteridophyta [135 y 136]. A diferencia de los musgos, tienen xilema y floema, lo que las hace plantas vasculares y como tales, tienen tallos, hojas y raíces [136].

La imagen estereotipada de los helechos que crecen en los bosques húmedos en rincones sombríos está lejos de ser una imagen completa de cada vez más hábitats donde los helechos se pueden encontrar. Las especies del helecho viven en una gran variedad de hábitats, desde las elevaciones montañosas remotas, en las caras secas de la roca del desierto, en los cuerpos de agua o en campo abierto [136 y 137], hay especies de helecho que pueden habitar en casi todas las condiciones en el planeta [138]. Los helechos en general se pueden considerar en gran medida como plantas que se han especializado en hábitats marginales, a menudo teniendo éxito en lugares en los que diversos factores ambientales limitan el éxito de plantas con flores. Algunos helechos están entre las especies de malezas más graves del mundo. Hay cuatro tipos particulares de hábitats en que los helechos se encuentran: bosques húmedos y sombríos, grietas en las paredes rocosas, sobre todo cuando hay completo abrigo del sol, humedales ácidos incluyendo los humedales y los pantanos y árboles tropicales, donde muchas especies son epífitas (algo así como un cuarto a un tercio de todas las especies de helechos) [135].

Los helechos se diferencian de otros tipos de plantas de varias maneras. Una es la forma en que se propagan. En lugar de crecer de una semilla o una flor, las plantas de helechos se reproducen sexualmente mediante esporas [138, 137 y 135].

El helecho puede crecer en suelos contaminados y acumula gran cantidad de elementos pesados en su biomasa por encima del suelo. Remediación de suelos contaminados han sido objeto de investigación por la capacidad del helecho para eliminar algunos contaminantes químicos, es decir, los helechos clasificados como hiper-acumuladores de arsénico [139].



Figura A- 13: Helecho.

## **ANEXO 10: EXACTITUD Y PRECISIÓN**

Dos términos se utilizan generalmente en la discusión de las incertidumbres en los valores de medición: precisión y exactitud [140]. Lo ideal de un dispositivo de medición es que sea exacto y preciso, con todas las mediciones cerca y estrechamente agrupadas en torno a un valor real o la verdad. La exactitud y la precisión de un proceso de medición generalmente se establece mediante medir varias veces algunos estándares de referencia trazables [141].

### **Exactitud**

En los campos de la ciencia, la ingeniería, la industria, y la estadística, la exactitud de un sistema de medida es el grado de cercanía de las mediciones de la cantidad de valor real de esa cantidad (real) [141 y 142]. Una determinación exacta produce un verdadero valor cuantitativo, es decir, es preciso y libre de prejuicios [143]. En una configuración de laboratorio esto es a menudo hasta qué punto un valor de medición es de un estándar con un valor conocido que se mide por una tecnología diferente o en un instrumento diferente [144].

### **Precisión**

La precisión de un sistema de medición, también llamado reproducibilidad o repetibilidad, es el grado en el que se repiten las mediciones en condiciones sin cambios mostrando los mismos resultados [141 y 142]. En las otras palabras, la precisión es una medida de qué tan cerca las mediciones individuales están de acuerdo una con la otra [140]. La medida de precisión de la dispersión o la dispersión en torno al valor principal y generalmente se expresa en términos de desviación estándar, error estándar o un rango (diferencia entre el mayor y el resultado más bajo) [143].

### **Las diferencias entre la exactitud y la precisión**

La exactitud es una medida de cuán cerca está el resultado del valor verdadero. La precisión es una medida de qué tan repetible es el resultado [145]. Obviamente, el objetivo es tener una medida que sea a la vez exacta y precisa, pero al ser uno no quiere decir que también sea el otro [144]. Por ejemplo, si tuviéramos un arco, flecha y el blanco de tiro con arco (figura A-14); los tiros exactos serían aquellos en los que golpean la diana. Si un disparo aterrizó en el blanco y otros alrededor de la meta serían exactos, pero no precisos, Si todos tiros aterrizaron muy cerca, pero no se acercan al objetivo, serían preciso, pero no exactos. Para ser exacta y precisa todos los tiros deberían estar juntos y en el blanco [144].

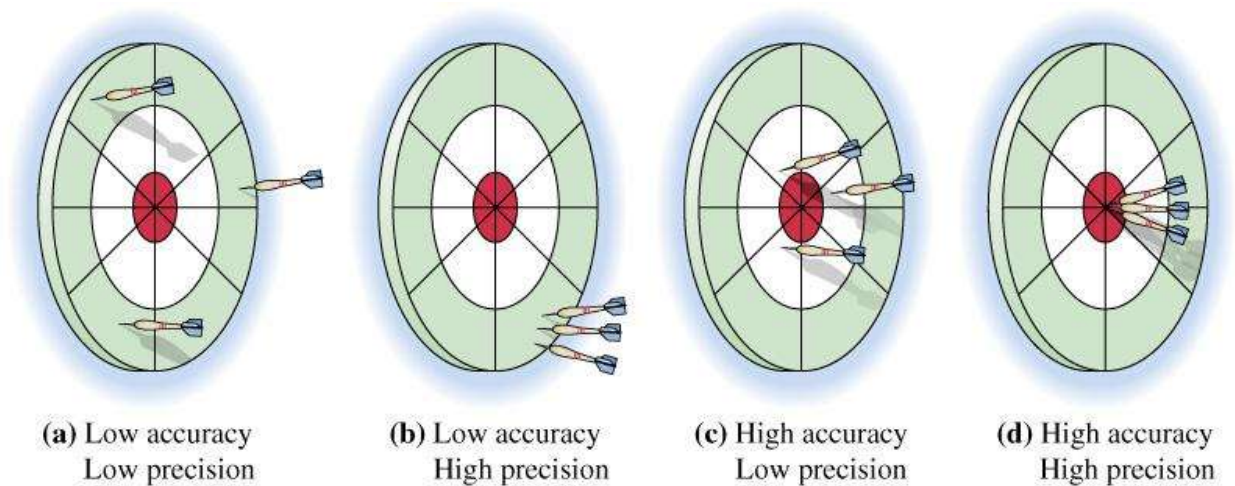


Figura A- 14: Práctica del objetivo, demostrando la diferencia entre exactitud y precisión.

En el ejemplo dado, es posible ser muy preciso, pero no en todo exacto. Esto se llama un error sistemático (a veces también llamado sesgo) y normalmente se puede corregir [145]. La eliminación del error sistemático mejora la exactitud, pero no cambia precisión [141].

Se gana la confianza para la precisión de la medición si se consigue casi el mismo valor en muchos experimentos diferentes. Por lo tanto, en el laboratorio a menudo se realizan varios ensayos diferentes de un mismo experimento. Es posible, sin embargo, por un valor preciso, ser inexactos. Por ejemplo, si un equilibrio muy sensible está mal calibrado, las masas medidas serán inexactas incluso si son precisas [140].

**BIBLIOGRAFÍA**

- [1] What lives in geothermal areas? [accessed 2013, February 8<sup>th</sup>]  
<http://www.waikatoregion.govt.nz/Environment/Natural-resources/Geothermal-resources/What-lives-in-geothermal-areas/>
- [2] Hot Springs - Geothermal Energy Sources and Their Therapeutic Properties [accessed 2013, February 22<sup>th</sup>]  
<http://articles.pubarticles.com/hot-springs-geothermal-energy-sources-and-their-therapeutic-properties-1321282235,487673.html>
- [3] Story: Hot springs, mud pools and geysers [accessed 2013, February 22<sup>th</sup>]  
<http://www.teara.govt.nz/en/hot-springs-mud-pools-and-geysers/page-4>
- [4] Kōrero: Hot springs, mud pools and geysers [accessed 2013, February 22<sup>th</sup>]  
<http://www.teara.govt.nz/mi/hot-springs-mud-pools-and-geysers/page-1>
- [5] Bruce Burns and John Leathwick (1995), Geothermal Vegetation Dynamics, Department of Conservation, Wellington, New Zealand.
- [6] Sunflowers for Lead. Spider Plants for Arsenic. [accessed 2013, February 22<sup>th</sup>]  
<http://www.metrojacksonville.com/article/2010-jun-sunflowers-for-lead-spider-plants-for-arsenic>
- [7] Los Azufres [accessed 2013, February 8<sup>th</sup>]  
<http://www.volcanolive.com/azufres.html>
- [8] Los Azufres [accessed 2013, February 8<sup>th</sup>]  
[http://www.volcanodiscovery.com/los\\_azufres.html](http://www.volcanodiscovery.com/los_azufres.html)
- [9] Sharma Ajay and Sharma Rohit (2012). Validation of analytical procedures: a comparison of ich vs pharmacopoeia (USP) vs FDA, IRJP 2012, 3(6).
- [10] Günter Zschornack (2007). Handbook of X-Ray Data, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin, Germany.
- [11] René E. Van Grieken and Andrzej A. Markowicz (2002). Handbook of X-Ray Spectrometry: Second Edition, Revised and Expanded, 2001, Marcel Dekker, Inc., New York.
- [12] G. Gauglitz and T. Vo-Dinh (2003). Handbook of Spectroscopy, Wiley-VCH.
- [13] B. Beckhoff, B. Kanngienßer, N. Langhoff, R. Wadell and H. Wolff (2006). Handbook of Practical X-Ray Fluorescence Analysis, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, Inc., Germany.

- [14] Larry D. Hanke, P.E. (2001). Handbook of Analytical Methods for Materials: Practical Solutions to Materials Problems through Technology and Innovation, Materials Evaluation and Engineering, Inc., USA.
- [15] De Francesco, A. M., Crisci, G. M. and Bocci, M. (2008). Non-Destructive Analytic Method Using XRF for Determination of Provenance of Archaeological Obsidians from the Mediterranean Area: A Comparison With Traditional XRF Methods. *Archaeometry*, 50: 337–350. doi: 10.1111/j.1475-4754.2007.00355.x
- [16] M. Steven Shackley (October 2010). X-Ray Fluorescence Spectrometry (XRF) in Geoarchaeology, Springer Science+Business Media, New York, USA.
- [17] Ron Jenkins (1976). An introduction to X-ray spectrometry, Heyden and Son Ltd., London.
- [18] Ron Jenkins (1999). X-Ray Fluorescence Spectrometry, second edition, John Wiley & Sons Inc., USA.
- [19] Peter Brouwer (2010). Theory of XRF: Getting acquainted with the principles (3<sup>rd</sup> Edition), PANalytical B.V. Almelo, Netherlands.
- [20] Energy-dispersive X-ray spectroscopy [accessed 2012, December 10th]  
[http://en.wikipedia.org/wiki/Energy-dispersive\\_X-ray\\_spectroscopy](http://en.wikipedia.org/wiki/Energy-dispersive_X-ray_spectroscopy)
- [21] Ron Jenkin (2000). X-ray Techniques: Overview, Encyclopedia of Analytical Chemistry, R.A. Meyers (Ed.), pp. 13269–13288, John Wiley & Sons Ltd, Chichester.
- [22] Claude Leroy and Pier-Giorgio Rancoita (2009). Principles of Radiation Interaction in Matter and Detection, Second Edition, World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., Singapore.
- [23] Nicholas Tsoulfanidis and Sheldon Landsberger (2011). Measurement and Detection of Radiation, Third Edition, CRC press, USA.
- [24] Working principle of an EDXRF spectrometer, SECTRO Analytical Instruments GmbH [accessed 2012, December 10<sup>th</sup>]  
<http://www.spectro.com/pages/e/p0105wp01.htm>
- [25] Raymond A. Serway and John W. Jewett, Jr. (2010). Physics for Scientists and Engineers with Modern Physics, Eighth Edition, Brooks/Cole.
- [26] Keith A. Smith and Malcolm S. Cresser (2004). Soil and Environmental Analysis: Modern Instrumental Techniques, Third edition, Marcel Dekker, Inc., New York, USA.
- [27] J. Heckel and R. Schramm (1997). Bragg and Barkla polarization in EDXRF, JCPDS-International Centre for Diffraction Data.

- [28] Joanne M. O'Meara (1999). PhD thesis: Measuring lead, mercury, and uranium by in vivo x-ray fluorescence, McMaster University, Canada.
- [29] Henry Semat and Robert Katz (1958). Physics, Chapter 41: Polarized Light, New York: Rinehart & Company, Inc., USA.
- [30] R. Saravanan and M. Prema Rani (2012). Metal and Alloy Bonding - An Experimental Analysis: Charge Density in Metals and Alloys, Springer-Verlag London Limited.
- [31] Eric Lifshin (1999). X-ray Characterization of Materials, WILEY-VCH Verlag GmbH, Germany.
- [32] J. Heckel and R. Schram (1997). Bragg and Barkla polarization in EDXRF, JCPDS-International Centre for Diffraction Data.
- [33] II. Principle of WD-XRF [accessed 2013, February 8<sup>th</sup>]  
[http://www.cnstn.rnrt.tn/afra-ict/NAT/xrf/html/principe\\_sec4.htm](http://www.cnstn.rnrt.tn/afra-ict/NAT/xrf/html/principe_sec4.htm)
- [34] X-ray Crystallography [accessed 2013, January 19<sup>th</sup>]  
[http://chemwiki.ucdavis.edu/Analytical\\_Chemistry/Instrumental\\_Analysis/X-ray\\_Crystallography](http://chemwiki.ucdavis.edu/Analytical_Chemistry/Instrumental_Analysis/X-ray_Crystallography)
- [35] J. Kenneth Shultis and Richard E. Faw (2002). Fundamentals of Nuclear Science and Engineering, Marcel Dekker, New York, USA.
- [36] Sabol J. and Weng P. S. (1995). Introduction to Radiation Protection Dosimetry, World Scientific Publishing Co., Singapore.
- [37] Martin A. and Harbison S. A. (1996). An Introduction to Radiation Protection, Chapman and Hall Medical, London, UK.
- [38] Knoll G. F. (2000). Radiation Detection and Measurement, Third edition, John Wiley and Sons, Inc., New York.
- [39] Kouichi Tsuji, Jasna Injuk and René Van Grieken (2004). X-Ray Spectrometry: Recent Technological Advances, John Wiley and Sons Ltd., UK.
- [40] Energy Dispersive Spectrometry (EDS) [accessed 2013, January 3<sup>th</sup>]  
[http://www4.nau.edu/microanalysis/microprobe-sem/signal\\_detection.html](http://www4.nau.edu/microanalysis/microprobe-sem/signal_detection.html)
- [41] Warra A. A. and Jimoh W.L.O. (August 08, 2011). Overview of an Inductively Coupled Plasma (ICP) System, International Journal of Chemical Research (IJCR), ISSN: 0975-3699 & E-ISSN: 0975-9131, Vol. 3, Issue 2, 201, pp-41-48.

- [42] Steve J. Hill (2007). *Inductively Coupled Plasma Spectrometry and its Applications*, 2nd Edition, Blackwell Publishing Ltd.
- [43] R. W. Murray, D. J. Miller and K. A. Kryc (2000). Analysis of major and trace elements in rocks, sediments, and interstitial waters by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry (ICP-AES). ODP Tech. Note, 29. doi:10.2973/odp.tn.29.2000.
- [44] Thomas J. Manning and William R. Grow (1997). *Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectrometry*, Springer-Verlag, New York, Inc., S1430 - 4171 (97) 01103-5.
- [45] *Guide to Inorganic Analysis from the leaders in AA, ICP-OES and ICP-MS* (2004), PerkinElmer, Inc., USA.
- [46] Robert Thomas (April 2001). A Beginner's Guide to ICP-MS, SPECTROSCOPY 16(4).
- [47] Robert Thomas (2004). *Practical Guide to ICP-MS*, Marcel Dekker, Inc., USA.
- [48] Simon M. Nelms (2005). *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry Handbook*, Blackwell Publishing Ltd.
- [49] Charles B. Boss and Kenneth J. Fredeen(1997). *Concepts Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*, Second Edition, Perkin-Elmer Corporation, USA.
- [50] Namik K. Aras and O. Yavuz Ataman (2006). *Trace element analysis of food and diet*, Royal Society of Chemistry, UK.
- [51] Figure of merit [accessed 2013, February 9<sup>th</sup>]  
[http://en.wikipedia.org/wiki/Figure\\_of\\_merit](http://en.wikipedia.org/wiki/Figure_of_merit)
- [52] AAS, GFAAS, ICP or ICP-MS? Which technique should I use? : An elementary overview of elemental analysis. Thermo Elemental, USA, 2001.
- [53] Stephen Summerfield (April 2010). *Introduction to Atomic Spectrometry*, Loughborough University, England & Wales License, UK.
- [54] *Atomic Spectroscopy: A Guide to Selecting the Appropriate Technique and System*, (2009), PerkinElmer, Inc., USA.
- [55] Wendy Ann Peer, Ivan R. Baxter, Elizabeth L. Richards, John L. Freeman and Angus S. Murphy (2006). Phytoremediation and hyperaccumulator plants. In: Markus J. Tamás and Enrico Martinoia eds. *Molecular Biology of Metal Homeostasis and Detoxification From Microbes to Man*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany.



- [56] Martina Mackova, David Dowling and Thomas Macek (2006). *Phytoremediation Rhizoremediation*, Springer, Netherlands.
- [57] Neil Willey (2007). *Phytoremediation, Methods and Reviews*, Humana Press Inc., New Jersey, USA.
- [58] Ray R. Hinchman, M. Cristina Negri and Edward G. Gatliff (August 1996). *Phytoremediation: Using Green Plants to Clean Up Contaminated Soil, Groundwater, and Wastewater*, Argonne National Laboratory and Applied Natural Sciences, Inc.
- [59] S. Khemnani, B. Aswani, A. Arora and R. S. Sindal (2012). Detection of heavy metal contents in the seed oil of *solanum malongena* (egg plant), *International Journal of Basic and Applied Chemical Sciences* ISSN: 2277-2073, 2012 Vol. 2 (1) January-March, pp.59-65/Khemnani et al.
- [60] Y. M. Varsha, Naga Deepthi CH and Sameera Chenna (2011). An Emphasis on Xenobiotic Degradation in Environmental Clean up. *J Bioremed Biodegrad* S11:001. doi:10.4172/2155-6199.S11-001.
- [61] A Citizen's Guide to Phytoremediation (April 2001). EPA 542-F-01-002, Washington, USA.
- [62] Phytoremediation [accessed 2013, February 7<sup>th</sup>]  
<http://en.wikipedia.org/wiki/Phytoremediation>
- [63] Jafari Ghavzan and R. K. Trivedy (2005). Environmental Pollution Control by using Phytoremediation Technology. *Pollution Research*, 24(4): 875-884. (ISI)
- [64] S. L. Hutchinson, A. P. Schwab and M. K. Banks, (2003). Biodegradation of petroleum hydrocarbons in the rhizosphere. In: Steven C. McCutcheon and Jerald L. Schnoor eds., *Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants*. (pp. 355-386). Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc.
- [65] Bruce E. Pivetz (February 2001). Ground Water Issue: Phytoremediation of Contaminated Soil and Ground Water at Hazardous Waste Sites, Environmental Protection Agency, EPA/540/S-01/500, USA.
- [66] Fertilizer [accessed 2013, February 7<sup>th</sup>]  
<http://en.wikipedia.org/wiki/Fertilizer>
- [67] Prabha K. Padmavathiamma and Loretta Y. Li (2007). *Phytoremediation Technology: Hyper-accumulation Metals in Plants*, Springer Science + Business Media B.V, *Water Air Soil Pollute* 184:105–126, DOI 10.1007/s11270-007-9401-5, 184:105–126.

- [68] Park S. Nobel (2009). *Physicochemical and Environmental Plant Physiology*, Academic Press is an imprint of Elsevier, Canada, Fourth Edition.
- [69] Jean-Louis Morel, Guillaume Echevarria and Nadezhda Goncharova (August, 2002). *Phytoremediation of Metal-Contaminated Soils*, Springer, Netherlands.
- [70] Garba, S. T. and Barminas, J.T. (2010). *Phytoremediation and the Deserts towards a Sustainable Environmental Development*, World Rural Observations 2010, 2(2).
- [71] L. R. Hossner, R. H. Loeppert, R. J. Newton and P. J. Szaniszlo (May 1998). Literature review: Phytoaccumulation of chromium, uranium, and plutonium in plant systems, Amarillo National Resource Center for Plutonium, TX (United States), ANRCP-1998-3.
- [72] Nancy Adams, Dawn Carroll, Kelly Madalinski, Steve Rock, Tom Wilson Bruce Pivetz, Todd Anderson, Jon Chappell, Scott Huling, Jessica Palmiotti and Phil Sayre (February 2000). *Introduction to Phytoremediation*, National Risk Management Research Laboratory, Ohio, USA, EPA/600/R-99/107.
- [73] Stern K. R. (2000). *Introductory plant biology*, Eighth Edition, Boston, MA: McGraw Hill.
- [74] Raskin I., Ensley B.D. (2000). *Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment*, New York, NY: John Wiley & Sons, Inc.
- [75] Ludwig Huber (2010), *Validation of Analytical Methods*, Agilent Technologies.
- [76] Chung Chow Chan (April 2008), *Analytical method validation: principles and practices*. In: Shayne Cox Gad ed., *Pharmaceutical Manufacturing Handbook: Regulations and Quality*, Hoboken, New Jersey, USA, John Wiley & Sons, Inc.
- [77] Katharina Wien, Dirk Wissmann, Martin Kölling and Horst D. Schulz (2005). Fast application of x-ray fluorescence spectrometry aboard ship: how good is the new portable Spectro Xepos analyser?, *Springer-Verlag, Geo-Mar Lett* 25: 248–264, DOI 10.1007/s00367-004-0206-x.
- [78] R. Padilla, P. Van Espen, and P.P. Godo Torres, The suitability of XRF analysis for compositional classification of archaeological ceramic fabric: a comparison with a previous NAA study, 2005, Elsevier B.V., doi:10.1016/j.aca.2005.10.077, *Analytica Chimica Acta* 558 (2006) 283–28.
- [79] D. M. Johnson, P. R. Hooper, and R. M. Conrey (1999). XRF analysis of rocks and minerals for major and trace elements on a single low dilution Li-tetraborate fused bead, JCPDS-International Centre for Diffraction Data.

- [80] Chris Vanhoof, Valère Corthouts and Kristof Tirez, Energy-dispersive X-ray fluorescence systems as analytical tool for assessment of contaminated soils, *J. Environ. Monit.*, 2004 , 6, 344 – 350
- [81] E. Margui, I. Queralt, ML. Carvaiho, M. Hidalgo (2005). Comparison of EDXRF and ICP-OES after microwave digestion for element determination in plant specimens from an abandoned mining area. *Anal. Chim. Acta*, 549, 197–204.
- [82] Nielson KK, Mahoney AW, Williams LS, Rogers VC 1991: X-ray fluorescence measurements of Mg, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Cu, and Zn in fruits, vegetables, and grain products. *J. Food Compost. Anal.*, 4, 39–51.
- [83] G. E. Hicho and E. E. Eaton, A standard reference material containing nominally five percent austenite (SRM 486a), National Bureau of Standard Special Publication 260-76, Washington, USA, Aug. 1982.
- [84] Heckel J, Haschke M, Brumme M, Schindler R. (1992) Principles and applications of energy-dispersive X-ray fluorescence analysis with polarized radiation. *JAAS* 7:281–286
- [85] Schramm R, Heckel J (1998) Fast analysis of traces and major elements with ED(P)XRF using polarized X-rays: TURBOQUANT. *J Phys IV Fr* 8 P5: 335–342.
- [86] Torkild Eivindson and Oyvind Mikkelsen, Problems by using pressed powder pellets for XRF analysis of ferrosilicon alloys, 1999, JCPDS-International Centre for Diffraction Data.
- [87] R. Schramm, J. Heckel and K. Molt, ED(P)XRF: Screening analysis and quantitative analysis with polarized x-rays, 1999, JCPDS-International Centre for Diffraction Data.
- [88] C. Namowicz, K. Trentelman and C. McGlinchey, XRF of cultural heritage materials: Round-robin IV – paint on canvas, *Powder Diffr.* 24, 124-129 (2009)
- [89] Truesdell A.H. (1976). Summary of section III: geochemical techniques in exploration, second united nations symposium on the development and use of geothermal resources, pp. 53–79, San Francisco, USA.
- [90] Fournier R.O. (1977). Chemical geothermometers and mixing models for geothermal systems, *Geothermics*, 5, 41–50.
- [91] Stefán Arnórsson (2000). Isotopic and chemical techniques in geothermal exploration, development and use: sampling methods, data handling, interpretation, International Atomic Energy Agency, Vienna.

- [92] What Happens When a Hot Spring Mixes With Sediment? [accessed 2013, March 17<sup>th</sup>]  
[http://www.ehow.com/facts\\_7545973\\_happens-hot-spring-mixes-sediment.html](http://www.ehow.com/facts_7545973_happens-hot-spring-mixes-sediment.html)
- [93] Fumarole science definition [accessed 2013, March 17<sup>th</sup>]  
<http://science.yourdictionary.com/fumarole>
- [94] Fumarole? [accessed 2013, March 17<sup>th</sup>]  
<http://www.thefreedictionary.com/Fumaroles>
- [95] Chemicals and Soils [accessed 2013, March 18<sup>th</sup>]  
<http://nzic.org.nz/ChemProcesses/soils/>
- [96] Plant nutrition [accessed 2013, March 18<sup>th</sup>]  
[http://en.wikipedia.org/wiki/Plant\\_nutrition](http://en.wikipedia.org/wiki/Plant_nutrition)
- [97] Plant Adaptations [accessed 2013, April 2<sup>th</sup>]  
<http://www.mbgnet.net/bioplants/adapt.html>
- [98] How do plants adapt to their environment? [accessed 2013, April 2<sup>th</sup>]  
[http://wiki.answers.com/Q/How\\_do\\_plants\\_adapt\\_to\\_their\\_environment](http://wiki.answers.com/Q/How_do_plants_adapt_to_their_environment)
- [99] An Introduction to ICP-OES [accessed 2013, April 2<sup>th</sup>]  
[http://www.apgqa.com/newsletters/10\\_2004\\_icp.asp](http://www.apgqa.com/newsletters/10_2004_icp.asp)
- [100] (2008). Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES), Koninklijke Philips, Electronics N.V.
- [101] (2001). SPECTRO ICP-Report: SPECTRO CIROSC<sup>CD</sup>: analytical performance of the new SPECTRO CIROSC<sup>CD</sup> ICP-Spectrometer with radial plasma viewing, SPECTRO Analytical Instruments GmbH, Kleve, Nr. ICP-32, SPECTRO.
- [102] Xiandeng Hou and Bradley T. Jones (2000). Inductively Coupled Plasma/Optical Emission Spectrometry. In: R.A. Meyers ed. Encyclopedia of Analytical Chemistry. pp. 9468–9485, John Wiley & Sons Ltd, Chichester.
- [103] Katleen Van Meel, Anne Smekens, Marc Behets, Paul Kazandjian and René Van Grieken (2007). Determination of platinum, palladium, and rhodium in automotive catalysts using high-energy secondary target x-ray fluorescence spectrometry. Anal. Chem., 79(16), pp 6383–6389, DOI: 10.1021/ac070815r.
- [104] Steven J. Goldstein, Alice K. Slemmons and Heather E. Canavan (1996). Energy-dispersive x-ray fluorescence methods for environmental characterization of soils, Environ. Sci. Technol., 30, 2318-2321. Vol. 30, No. 7.

[105] Eva Marguí, Clàudia Fontàs, Katleen Van Meel, René Van Grieken, Ignasi Queralt, and Manuela Hidalgo (2008). High-energy polarized-beam energy-dispersive x-ray fluorescence analysis combined with activated thin layers for cadmium determination at trace levels in complex environmental liquid samples, *Anal. Chem.*, 80, 2357-2364. Vol. 80, No. 7.

[106] J. M. Wood (1985). Effects of Acidification on the Mobility of Metals and Metalloids: An Overview, *Environmental Health Perspectives*, Vol. 63, pp. 115-119.

[107] Silicon [accessed 2013, April 14<sup>th</sup>]  
<http://en.wikipedia.org/wiki/Silicon>

[108] A. A. Yaroshevsky (2006). Abundances of Chemical Elements in the Earth's Crust, *Geochemistry International*, Vol. 44, No. 1, pp. 48-55, ISSN 0016-7029, DOI: 10.1134/S001670290601006X.

[109] Geothermal Habitats [accessed 2013, April 29<sup>th</sup>]  
[http://www.ehow.com/info\\_8326584\\_geothermal-habitats.html](http://www.ehow.com/info_8326584_geothermal-habitats.html)

[110] Marco A. Torres-Rodríguez, Alfredo Mendoza-Covarrubias and Moisés Medina-Martínez (2005). An update of the Los Azufres geothermal field, after 21 years of exploitation, Antalya, Turkey, 24-29.

[111] Salvatore Brullo, Maria Privitera and Marta Puglisi (2001). Phytogeographical considerations on the fumarole bryoflora from Mediterranean and Macaronesian areas. *Boccone* 13: 329-336, ISSN 1120-4060.

[112] Bruce Burns (1997). Vegetation change along a geothermal stress gradient at the Te Kopia steamfield, *Journal of the Royal Society of New Zealand*, 27:2, 279-293.

[113] Salvatore Brullo, Maria Privitera and Marta Puglisi (2004). Bryophyte vegetation of the fumaroles from some Mediterranean and Macaronesian territories, *Nova Hedwigia* 78: 367-387, DOI: 10.1127/0029-5035/2004/0078-0367.

[114] R.I. Lewis Smith (2005). The thermophilic bryoflora of deception island: unique plant communities as a criterion for designating an Antarctic Specially Protected Area, *Antarctic Science* 17 (1): 17-27, DOI: 10.1017/S0954102005002385

[115] Margaret A. Briggs-Kamara (2012). Elemental analysis of selected epidermal creams by x-ray Fluorescence (XRF) Spectrometry, *International Journal of Emerging Technology and Advanced Engineering*, ISSN 2250-2459, Volume 2, Issue 5. May 2012

- [116] E. Marguí, I. Queralt and M. Hidalgo (2009). Application of x-ray fluorescence spectrometry to determination and quantitation of metals in vegetal material, *Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 28, No. 3, doi:10.1016/j.trac.2008.11.011.
- [117] Ilya Raskin, Robert D. Smith and David E. Salt (1997). Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment, *Current Opinion in Biotechnology*, 8221-226.
- [118] D. E. Salt, R. D. Smith, and I. Raskin (1998). Phytoremediation, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49:643–68.
- [119] Elizabeth Pilon-Smits (2005). Phytoremediation, *Annu. Rev. Plant Biol.* 56:15–39. doi: 10.1146/annurev.arplant.56.032604.144214.
- [120] M. N. V. Prasad (2011). A State-of-the-Art report on Bioremediation, its Applications to Contaminated Sites in India, Ministry of Environment & Forests, Government of India
- [121] Scott D. Cunningham, William R. Berti and Jianwei W. Huang (1995). Manipulating metabolism: Phytoremediation of contaminated soils, TIBTECH (VOL 13), Elsevier Science Ltd 0167 - 7799/95/\$9.50.
- [122] M. M. Lasat (2000). Phytoextraction of the metals from contaminated soil: A review of plant/soil/metal interaction and assessment of pertinent agronomic issues, *Journal of Hazardous Substance Research Volume Two*.
- [123] Michael W. Persans and David E. Salt (2000). Possible molecular mechanisms involved in nickel, zinc and selenium hyperaccumulation in plants, *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, Volume 17.
- [124] Ron Jenkins, R. W. Gould, and Dale Gedcke (1995). *Quantitative X-ray Spectrometry*, Second Edition, Marcel Dekker, Inc., New York, USA, 439-460.
- [125] Sieve Access [accessed 2013, January 30<sup>th</sup>]  
<http://www.thefreedictionary.com/sieve>
- [126] Sieve Access [accessed 2013, January 30<sup>th</sup>]  
<http://www.merriam-webster.com/dictionary/sieve>
- [127] Sieve Access 1-30-2013 [accessed 2013, February 7<sup>th</sup>]  
<http://en.wikipedia.org/wiki/Sieve>
- [128] Mortar and pestle [accessed 2013, February 5<sup>th</sup>]  
[http://en.wikipedia.org/wiki/Mortar\\_and\\_pestle](http://en.wikipedia.org/wiki/Mortar_and_pestle)
- [129] Hydraulic press [accessed 2013, February 5<sup>th</sup>]

[http://en.wikipedia.org/wiki/Hydraulic\\_press](http://en.wikipedia.org/wiki/Hydraulic_press)

[130] The Working and usage Of Hydraulic Press [accessed 2013, February 5<sup>th</sup>]

[http://www.hydraulicmania.com/hydraulic\\_press.htm](http://www.hydraulicmania.com/hydraulic_press.htm)

[131] Moss [accessed 2013, February 10<sup>th</sup>]

<http://en.wikipedia.org/wiki/Moss>

[132] What is moss [accessed 2013, February 10<sup>th</sup>]

<http://www.wisegeek.org/what-is-moss.htm>

[133] Moss [accessed 2013, February 10<sup>th</sup>]

<http://global.britannica.com/EBchecked/topic/393741/moss>

[134] Maurizio Aceto, Ornella Abollino, Raffaele Conca, Mery Malandrino, Edoardo Mentasti, Corrado Sarzanini (2003), The use of mosses as environmental metal pollution indicators, *Chemosphere* 50 333–342, Elsevier Science Ltd.

[135] Fern [accessed 2013, February 10<sup>th</sup>]

<http://en.wikipedia.org/wiki/Fern>

[136] Fern [accessed 2013, February 10<sup>th</sup>]

<http://en.canadianflowerdelivery.com/flower-meaning/fern.aspx>

[137] About ferns [accessed 2013, February 10<sup>th</sup>]

<http://www.home.aone.net.au/~byzantium/ferns/about.html>

[138] About ferns [accessed 2013, February 10<sup>th</sup>]

[http://www.aboutferns.com/fern\\_plants.shtml](http://www.aboutferns.com/fern_plants.shtml)

[139] Bala Rathinasabapathi, Lena Q. Ma, Mrittunjai Srivastava (2006), Arsenic Hyperaccumulating Ferns and their Application to Phytoremediation of Arsenic Contaminated Sites, *Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology Volume III*, Global Science Books, UK.

[140] Uncertainty in measurement [accessed 2013, March 2<sup>th</sup>]

<http://wps.prenhall.com/wps/media/objects/3310/3390101/blb0105.html>

[141] Accuracy and precision [accessed 2013, March 2<sup>th</sup>]

[http://en.wikipedia.org/wiki/Accuracy\\_and\\_precision](http://en.wikipedia.org/wiki/Accuracy_and_precision)

[142] Accuracy and precision [accessed 2013, March 2<sup>th</sup>]

<http://www.mathsisfun.com/accuracy-precision.html>

[143] Basic statistical tools [accessed 2013, March 2<sup>th</sup>]

<http://www.fao.org/docrep/W7295E/w7295e08.htm>

[144] Accuracy and precision [accessed 2013, March 2<sup>th</sup>]

<http://forensictalks.blogspot.mx/2011/02/accuracy-and-precision.html>

[145] Accuracy, precision and common errors [accessed 2013, March 2<sup>th</sup>]

<http://labspace.open.ac.uk/mod/resource/view.php?id=346092>