

*“No saber lo que ha sucedido antes de nosotros es como ser incesantemente niños”*

Cicerón

---

---

# *Antecedentes*

---

---

## 1. ANTECEDENTES

---

### **1.1. Contaminación atmosférica**

En la actualidad, el avance tecnológico es enorme y en la obtención de satisfactores se ha perseguido el máximo beneficio, con el menor costo y esfuerzo. Las industrias, automóviles y otras fuentes de contaminación han cumplido con aumentar la producción de bienes y satisfacción de las necesidades, pero a un enorme costo social, ya que ha originado una contaminación -transmisión y difusión de sustancias tóxicas, presencia de polvos y gérmenes microbianos a medios como la atmósfera, suelo y agua, consecuencia de las actividades del hombre y en una mínima proporción por procesos naturales- en el ambiente, que es ya, incompatible con la salud humana y la supervivencia del ecosistema.

“La contaminación del aire es por definición la presencia en la atmósfera de uno o más contaminantes o sus combinaciones, en cantidades tales y con tal duración que puedan afectar la vida humana, de animales, de plantas o de la propiedad, que interfieran con el goce de la vida, la propiedad o el ejercicio de las actividades” [LGEEPA, 1998].

Los procesos naturales, como por ejemplo incendios forestales, descomposición de la vegetación, tormentas de polvo, erupciones volcánicas siempre han contaminado el aire, la distribución y dispersión globales de dichos contaminantes resultan en concentraciones promedio de bajo valor y la atmósfera por sí sola es capaz de eliminarlos por medio de las precipitaciones, oxidación, absorción en los océanos y el suelo. Las actividades del hombre entre las que destacan las de carácter industrial, doméstico, agropecuario, el crecimiento suburbano, han llevado a una producción y concentración de contaminantes del aire. Además, los contaminantes de origen antropogénico se concentran en áreas geográficas de poca extensión, excediendo así, la tasa de limpieza de la atmósfera; por tanto la mayor parte de la contaminación atmosférica la provoca el hombre [Caballero, 2009].

#### **1.1.1. Contaminación atmosférica por la presencia de metales**

Entre los contaminantes atmosféricos de mayor interés pueden citarse a las partículas, el dióxido de nitrógeno y el monóxido de carbono, constituyendo un problema ambiental

resultante de las actividades del hombre o contaminación antrópica. Asimismo, existe preocupación a nivel mundial con relación a la *contaminación por transporte atmosférico de metales pesados* a gran escala debido a que no son química ni biológicamente degradables pueden permanecer en el ambiente cientos de años y a su capacidad de asociación a masas de aire; por efectos de la recirculación de los vientos, dichos metales tienden a depositarse en áreas alejadas a su fuente de origen [Machado *et al.*, 2009].

La actividad industrial y el tráfico automotor cumplen un rol importante en la formación de partículas; en consecuencia, la concentración de partículas en áreas urbanas es alta comparada con áreas no urbanas. A partir de estudios epidemiológicos, se han obtenido datos que permiten afirmar que existe una correlación significativa entre la exposición al material particulado atmosférico y diversos efectos adversos sobre la salud. En estos estudios, el material particulado ha sido caracterizado, morfológicamente y químicamente, encontrando que a tamaños menores de partícula los daños de este contaminante a la salud se incrementan significativamente, debido que aumenta su nivel de penetración en el aparato respiratorio [Caballero, 2009; Machado *et al.*, 2009].

Al margen del tamaño de las partículas, los efectos en la salud del material particulado atmosférico dependen, también, de su composición química, ésta es muy diversa y en muchas ocasiones nociva. A pesar de que en la actualidad aún existe incertidumbre acerca de los efectos provocados por las diferentes especies químicas, la mayoría de los estudios apuntan que el mayor impacto en la salud viene causado por las partículas de carbono elemental (CE), compuestos orgánicos (CO), especialmente hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), sulfatos y nitratos, asimismo, determinados metales pesados y metaloides como As, Cd, Hg, Fe, Zn, Cr, Cu, Al, V, Ni y Pb [Wichmann y Peters, 2000; WHO, 2003].

Los metales como el Na, Fe, Si, Mn, Al, Ti y Mg se emiten, principalmente, a la atmósfera como resultado de procesos naturales. Mientras, el origen de metales tales como Pb, Cu, Ni, Cr, Cd, Fe, Ba, V, Zn y Cu como lo indicaron Fernández *et al.*, 2000 y Sternbeck *et al.*, 2002 es atribuido principalmente al tráfico vehicular y a la industria, ambas, actividades humanas. Los daños provocados por estos metales son severos, lo cual los ha convertido en un tema no sólo ambiental sino de salud pública [Bukowiecki *et al.*, 2006].

La Organización Mundial de la Salud, WHO por sus siglas en inglés en el 2007, señala que los metales pesados son contaminantes atmosféricos persistentes y muy comunes en el ambiente, introduciéndose a las cadenas alimenticias, ya que fácilmente se bioacumulan. Asimismo, reitera que aunque la contaminación del aire es sólo una fuente de exposición a metales pesados, ésta adquiere su trascendencia porque traspasa fronteras, afectando a la más remota región del mundo [WHO, 2003].

### **1.2. Uso de musgos como indicadores biológicos de contaminación atmosférica**

Los estudios sobre contaminación atmosférica han sido, frecuentemente, limitados por los altos costos y las dificultades inherentes al muestreo, por ello el interés en el biomonitoreo atmosférico, un método que permite evaluar la calidad del aire utilizando indicadores biológicos expuestos a las condiciones del medio. El biomonitoreo atmosférico responde a necesidades distintas de información ambiental y puede ser activo o pasivo; en el activo los indicadores biológicos son transplantados desde áreas libres de contaminación a la zona cuya calidad del aire se desea evaluar estacionalmente o en un período específico; mientras que en el pasivo los indicadores biológicos son colectados directamente del área de estudio y su objetivo es determinar las concentraciones base de contaminación, realizando estudios de seguimiento [Mejía, 2013].

Los indicadores biológicos son organismo que frente a la presencia de sustancias anómalas sufren cambios fisiológicos, morfológicos y proporcionan información sobre el grado de calidad del aire. Asimismo, dichos organismos deben ser comunes, resistentes, disponibles en cualquier época del año y adaptables a la zona de estudio, acumular contaminantes de la misma forma y en el mismo grado bajo condiciones diferentes y la medición de los contaminantes debe ser sencilla [Mejía, 2013].

Por lo anterior, el uso de los musgos como indicadores biológicos de contaminación atmosférica está fuertemente difundido como método indirecto de medición de contaminantes, específicamente, en lo que respecta a la deposición atmosférica de metales pesados el cual se ha utilizado desde finales de los años sesenta en el norte de Europa e incrementando y extendido a otros países con el tiempo, por su eficacia y facilidad de aplicación [Harmens *et al.*, 2010].

Suchara *et al.*, 2011, Grodzinska y Szarek-Lucaszewska, 2001 y Harmens *et al.*, 2010 refieren que el monitoreo ambiental con musgo es la mejor técnica para cuantificar metales en el ambiente. Los musgos, un tipo de Briophytas, proporcionan muchas ventajas en este sentido, tales como su extensa distribución geográfica, encontrándose en ambientes muy variados, selvas, bosques templados y caducifolios; también, en desiertos y ambientes acuáticos o incluso en zonas urbana, tienden a crecer en cualquier época del año, enorme adaptabilidad a las condiciones de su entorno, es posible su supervivencia en zonas altamente contaminadas, su pared celular permite la fácil penetración de iones metálicos, poseen una excelente retención de humedad, debido a su simplicidad estructural absorben la mayor parte de los minerales necesarios para su desarrollo por deposición atmosférica y no del sustrato, reduciéndose la posible influencia de los metales pesados presentes en el sustrato en el que viven. Asimismo, gozan de una amplia superficie de contacto con la atmósfera, su delgada cutícula hace posible la interacción directa con su medio en comparación con las plantas superiores, debido a esto la acumulación metálica en musgos está en función de la deposición atmosférica (seca y/o húmeda) y su continua interacción con ésta y sus contaminantes. También, su rápido y económico muestreo es otra de sus prerrogativas [Delgadillo, 1998; Camiz *et al.*, 2008; Anicic *et al.* 2009].

Los musgos son organismos ideales para estudios de contaminación tanto en campo como en laboratorio, sirviendo como indicadores biológicos de perturbación ecológica; por ejemplo, musgos que han sido sometidos a altos niveles de contaminación tienen una disminución en su cobertura, pérdida de clorofila y vitalidad e inhibición de reproducción sexual, lo cual conduce a la extinción local de la especie. De esta forma la presencia o ausencia de condiciones ambientales uniformes puede dar una idea de la sensibilidad o resistencia de los organismos a la contaminación y al mismo tiempo puede servir como un indicador de la calidad del aire [Migaszewski *et al.*, 2010; Harmens *et al.*, 2007].

### **1.3. Características generales de la Zona Metropolitana Del Valle De Toluca –ZMVT-**

La zona de estudio de la presente investigación es la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT), la cual ha presentado una transformación paulatina en sus actividades económicas, pasando de ser una economía rural a una industrial y de servicios, contando con importantes parques industriales, y está considerada como una de las metrópolis más importantes en la Región Centro del país. El incremento de las actividades productivas y la concentración de

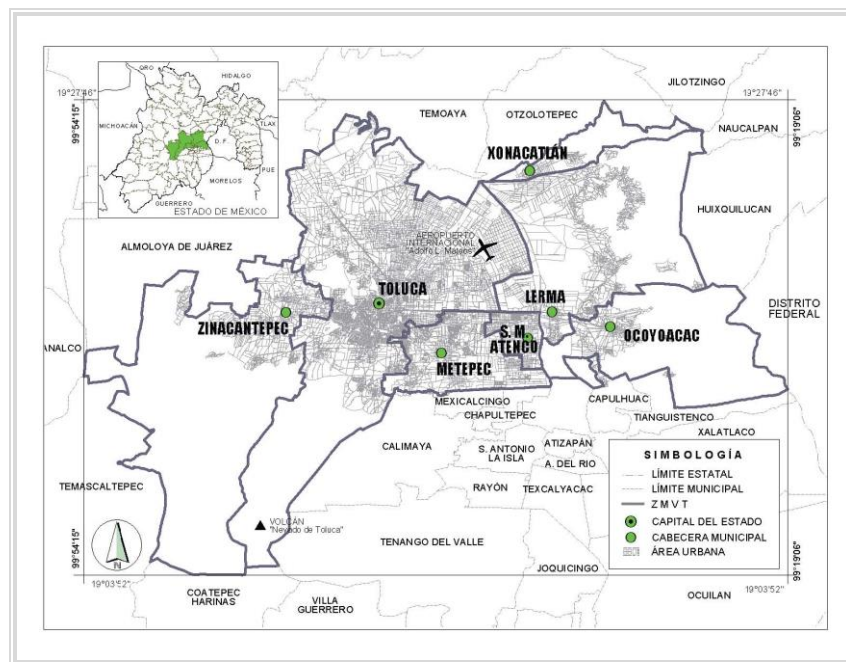
una población creciente han detonado un aumento en los servicios de transporte, tanto público como privado, ocasionando un mayor consumo de combustibles y por lo tanto, la degradación en la calidad del aire es cada vez mayor; al considerar que la ZMVT se extiende sobre una superficie de 1,208.55 kilómetros cuadrados y se asienta a una altitud promedio de 2,660 metros sobre el nivel del mar situación que determina que el contenido de oxígeno sea 23% menor que a nivel del mar, lo cual tiende a hacer menos eficientes y más contaminantes los procesos de combustión [GEMa, 2007].

La demanda de energía para vehículos automotores, industrias, comercios y servicios de la ZMVT se cubren en su totalidad con hidrocarburos (gasolinas, gas, L.P., gas natural, diesel, combustóleo y gasóleo); en el año 2000 el consumo energético de combustibles fósiles para la zona fue de 3.9 millones de litros de gasolina al día. En el 2004 el Gobierno del Estado de México reporto que en la ZMVT se emiten anualmente 608,140.2 toneladas de contaminantes a la atmósfera, de las cuales el 93% corresponde al transporte, el 6% a los establecimientos industriales y el 1% a la vegetación y suelos. Por otro lado la estructura vial actual carece de vialidades periféricas estructuradoras, presentándose una saturación de transporte urbano como consecuencia del diseño inadecuado de las rutas incrementando considerablemente la cantidad de partículas emitidas a la atmósfera y la demanda energética ya que el consumo energético puede incrementarse debido a factores como distancia recorrida, incremento en la flota vehicular, congestionamiento de las vías de comunicación, edad del parque vehicular y tecnología para el control de emisiones. GEM, 2004; GEMa, 2007].

### **1.3.1. Localización Geográfica**

En el tema de calidad del aire, la Zona Metropolitana del Valle de Toluca comprende siete municipios de este a oeste y de norte a sur: Xonacatlán (32.87 Km<sup>2</sup>), Lerma (228.64 Km<sup>2</sup>), Ocoyoacac (134.71 Km<sup>2</sup>), San Mateo Atenco (12.58 Km<sup>2</sup>), Metepec (70.43 Km<sup>2</sup>), Toluca (420.14 Km<sup>2</sup>) y Zinacantepec (309.18 Km<sup>2</sup>), que corresponden al 5.3% del territorio estatal y que por su constante dinámica e interacción contribuyen de manera significativa al problema de la contaminación a la atmósfera a partir de su actividad urbana, afectando de manera directa a la salud de su población, además de acarrear efectos adversos a regiones boscosas y otros ecosistemas. Es importante considerar que el área urbana de estos comprende una superficie de 315.80 km<sup>2</sup> (el 26.1%), según los usos de suelo identificados en los planes de desarrollo urbano municipales [GEMb, 2007].

El Valle de Toluca está rodeado por grandes sierras y aparatos volcánicos individuales, entre estos están: al suroeste, la Sierra Nevado de Toluca; al este, la Sierra de las Cruces; al noreste, la Sierra de Monte Alto y al sur, la Sierra Matlazinca, además se encuentran en forma aislada algunas elevaciones entre las que destaca el volcán Molcajete en la Sierra Morelos, al noreste del municipio Toluca. Asimismo, se localiza en la parte centro del Estado de México; colinda al norte con los municipios de Almoloya de Juárez, Temoaya, Otzolotepec y Jilotzingo, al sur con Coatepec Harinas, Ocuilan, Tenango del Valle, Calimaya, Mexicalcingo, Tianguistenco y Capulhuac; al este con el Distrito Federal, Huixquilucan y Naucalpan, y al oeste con Almoloya de Juárez, Amanalco y Temascaltepec (**Figura 1.1.**).



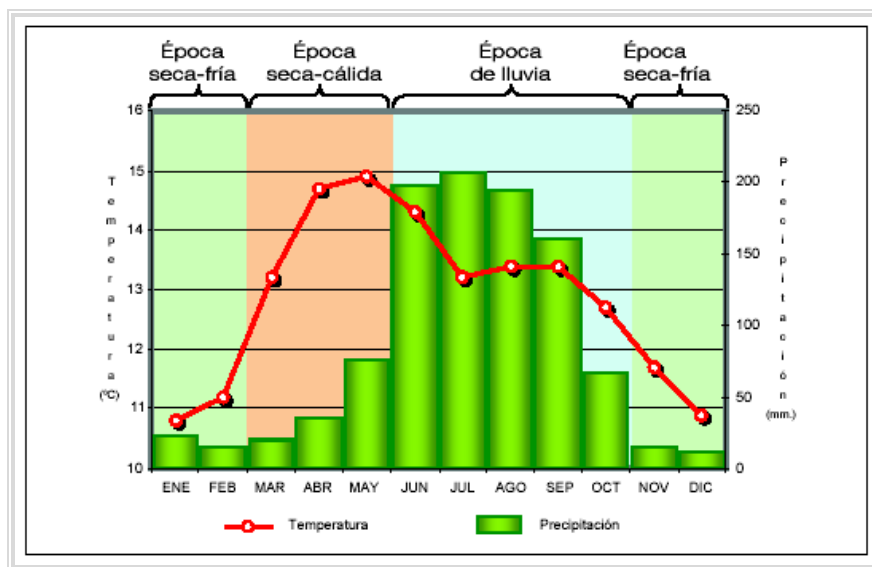
**Figura 1.1.** Localización de la ZMVT [GEMA, 2007]

### 1.3.2. *Clima*

En la ZMVT se presentan tres tipos de climas; (1) clima templado húmedo abarca la mayor parte de los municipios y presenta verano largo, lluvia invernal inferior a 5%, es isotermal y la temperatura más elevada se manifiesta antes del solsticio de verano. (2) Clima semifrío subhúmedo que exhibe porcentajes de precipitación invernal menores a 5%, el verano es largo; isotermal y con la temperatura más elevada antes del solsticio de verano, es característico de aquellas zonas con altitud considerable, como el volcán “Nevado de Toluca” y la Sierra de las Cruces, localizados al suroeste y este de la zona de estudio

respectivamente. (3) Clima frío que es característico de regiones altas, manifestándose sobre la zona de estudio en la parte alta del volcán “Nevado de Toluca” con una temperatura media anual entre -2 y 5 °C.

En la **Figura 1.2** se observa el comportamiento de las precipitaciones pluviales y las épocas climáticas a lo largo del año. La época seca-fría comprende los meses de noviembre a febrero con un rango de temperatura promedio mensual entre 9° y 11 °C, considerada la más baja del año. La época que corresponde a los meses de marzo a mayo es la seca-cálida, presentando un ascenso en la temperatura hasta llegar a los 15 °C, siendo la temperatura media que se expresa como máxima en la zona a lo largo del año. Con respecto a las precipitaciones durante estas dos épocas del año, se muestran lluvias insignificantes con registros inferiores a los 40 milímetros de precipitación. Mientras, en los meses de junio a octubre, se presenta la época de lluvia, caracterizada por la presencia de precipitaciones que se desarrollan con un rango de entre 160 y 210 milímetros. Asimismo, hay un decremento en la contaminación atmosférica [NC, 2007].



**Figura 1.2.** Climograma de la ZMVT [GEMa, 2007]

### 1.3.3. Dinámica de Vientos

La ZMVT no se encuentra rodeada por completo por barreras naturales lo que provoca que la circulación del viento se vea favorecida. La circulación del viento en dirección y frecuencia es variada, **Figura 1.3**, y está en función del relieve, pero en general, se encuentra en la zona de influencia de los vientos alisios, cuya intensidad se expresa más bien débil e incluso



estable en el período que comprende la época fría predominando los vientos provenientes del sur y con dirección norte, con una ligera curvatura desviada a favor de las manecillas del reloj; el volcán “Nevado de Toluca” no permite que circulen libres los vientos que llegan por el sur provocando el cambio de su trayectoria y haciendo que se deslicen hacia el valle por su flanco sureste.

En el período que comprende la época seca-cálida, (meses de marzo a mayo), los vientos se intensifican más y modifican su curso por la aceleración de los alisios; sin embargo, aquí influye el sistema de relieve que presenta la Sierra de las Cruces orientada de norte a sur, la cual obstruye de manera determinante el paso libre de los vientos alisios hacia este valle; así pues se encuentran estos vientos del este con los del sur para rotar hacia el noroeste describiendo una prominente curvatura en sentido de las manecillas del reloj. Para cerrar el ciclo anual, se muestra la máxima expresión de los alisios durante la época de lluvia, cuya dinámica se expresa del este y sureste con dirección noroeste y norte favoreciendo la transportación de contaminantes generados en lugares como la zona industrial del municipio de Lerma para depositarse y ser afectada la porción extrema noroeste de Toluca. El registro del comportamiento del viento hace de manifiesto para el caso de la ZMVT una marcada dominancia de los vientos del sur y sureste, situación que refleja las concentraciones de partículas suspendidas más elevadas en época seca [GEMb, 2007].

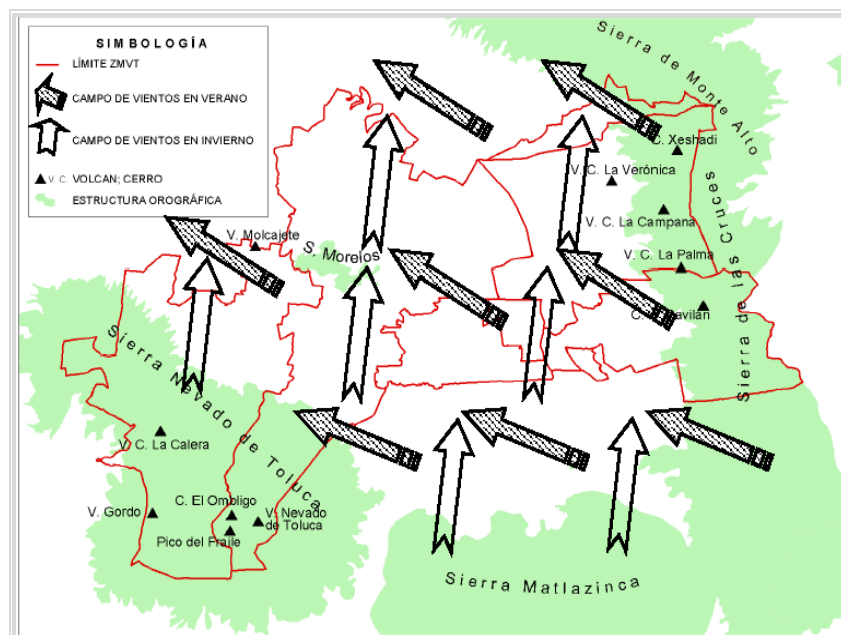


Figura 1.3. Dinámica de vientos sobre la ZMVT [GEMb, 2007]

#### **1.4. El análisis químico en la estimación de riesgos ambientales**

En lugares como Bulgaria, Suiza, Polonia, Alaska, España, Argentina, Serbia y México, diversos autores, tales como Santoni y Lijteroff, 2006, Pepi *et al.*, 2006, Camiz *et al.*, 2008, Cervantes *et al.*, 2008, Anicic *et al.*, 2009, Migaszewski *et al.*, 2010 y Thöni *et al.*, 2011 han empleado, para determinar el impacto de la contaminación por metales, el biomonitoreo con musgo, seguido del análisis en el laboratorio para detectar los niveles de metales en los organismos usando técnicas analíticas tales como Espectrofotometría de Absorción Atómica (AAS, por sus siglas en inglés), Emisión de rayos X inducida por partículas (PIXE, por sus siglas en inglés), Análisis por Activación Neutrónica (AAN), Espectrometría de emisión óptica de plasma (ICP-OES, por sus siglas en inglés) y Fluorescencia de Rayos X en Reflexión Total (TXRF, por sus siglas en inglés). Demostrando, que el uso de manera conjunta de bioindicadores, capaces de acumular contaminantes atmosféricos, y de técnicas analíticas que proporcionan información sobre la concentración de una gran variedad de elementos, facilitando la detección de estos en muy bajas concentraciones, son herramientas poderosas para identificar metales y comparar niveles de contaminación en la zona de estudio [Szoboszlai *et al.*, 2009].

El análisis químico forma parte primordial en la estimación de riesgos ambientales, en la revisión sistemática del monitoreo ambiental y en la toma de decisiones que puedan prevenir a la población frente a contextos drásticos de contaminación del aire, dichas razones proporcionan un panorama acerca de la relevancia que tiene la óptima elección de una técnica analítica para ponderar la problemática ambiental de la ZMVT.

Las innovaciones en el análisis químico elemental tienden hacia la determinación simultánea de elementos con un alto nivel de detección, por ejemplo la TXRF y el AAN son técnicas analíticas nucleares cuyo uso está ampliamente difundido en investigaciones con muestras biológicas [Zarazúa *et al.*, 2006; Martínez *et al.*, 2008; Tejeda *et al.*, 2010].

El AAN se fundamenta en la detección y medición de la intensidad de los rayos gamma característicos emitidos por isótopos radiactivos producto de la irradiación de la muestra con neutrones térmicos, la cual posee un gran poder analítico cualitativa y cuantitativamente. La técnica consta de dos etapas de análisis, la primera es la irradiación con neutrones térmicos en un reactor nuclear y la segunda es la cuantificación de la actividad producida e identificación de los elementos que la producen.

Una muestra sometida al bombardeo con un flujo de neutrones produce una reacción nuclear característica, en éstas los neutrones interaccionan con los núcleos formando un núcleo compuesto, que inmediatamente se desintegra. La reacción más común en el AAN es la captura de neutrones ( $n, \gamma$ ), en la cual un neutrón de baja energía (0.025 eV) es capturado por el núcleo con la emisión inmediata de un rayo gamma; los núcleos producidos emiten radiación con la cantidad y características de la energía del elemento en particular presente en la muestra. La radiación emitida es una "huella digital" del elemento y la cantidad de radiación emitida en una cierta energía es indicativo de la cantidad del elemento presente en la muestra [Mejía, 2013].

Este análisis presenta numerosas ventajas como su alta sensibilidad, analiza intervalos de concentración sumamente bajos y no requiere tratamiento de muestra. Sin embargo, presenta altos costos, requiere instalaciones especializadas y adecuadas condiciones de seguridad, el tiempo de análisis puede ser muy largo dependiendo del elemento de interés [Marqués *et al.*, 2000; Iturbe, 2001].

La TXRF se basa en el estudio de las emisiones de fluorescencia de rayos X generados después de la excitación de una muestra mediante una fuente de rayos X. Los átomos presentes en la muestra analizada son excitados de modo que los electrones de las capas internas son arrancados o promocionados a niveles de energía superiores. Los electrones de otras capas minimizan su energía ocupando los huecos electrónicos que quedan libres, de modo que la energía asociada a dichas transiciones se re-emiten en forma de fotones. A estas emisiones se las conoce como emisiones de fluorescencia o radiación secundaria y presentan energías características del átomo que las genera y una intensidad que depende directamente de la concentración de dicho átomo en la muestra. El resultado es un espectro de dispersión de energía, donde aparecen las líneas asociadas a los elementos químicos presentes. Analizando la posición de los máximos de intensidad, se identifican los elementos presentes integrando cada uno de los perfiles elementales se obtienen sus proporciones másicas y añadiendo un elemento patrón de concentración conocida se obtiene la cuantificación de dichos elementos [Misra y Singh-Mudher, 2002; Szoboszlai *et al.*, 2009].

Las ventajas y aplicaciones de la TXRF han sido estudiadas ampliamente por diversos autores, por ejemplo, Misra y Singh-Mudher en 2002 indican que es un método de análisis elemental cualitativo y cuantitativo, no destructivo, que requiere de una cantidad mínima de

muestra. Asimismo, posee bajos tiempos y relativos bajos costos de análisis, excelentes límites de detección y los efectos que pueda tener la matriz de la muestra con el analito de interés son despreciables, lo anterior hace que sus aplicaciones sean casi ilimitadas, usándose en la industria, en estudios del ambiente, en el campo de la medicina, entre muchos otros. La estrategia de análisis para esta técnica analítica envuelve varias etapas: (1) la muestra normalmente requieren de un pre-tratamiento para transformarla a una solución, suspensión, polvos bien homogenizados o finas láminas para luego mezclarlo con un estándar interno, (2) la calibración del instrumento, (3) la interpretación del espectro, (4) el cálculo del de las intensidades del espectro y por último, (5) la cuantificación de la concentración. La literatura indica que la TXRF es comparable con cualquier otro método instrumental gracias a elevada exactitud, precisión y estabilidad.

También, técnicas analíticas convencionales, como la AAS y la ICP-OES se han empleado para la determinación de metales en organismos indicadores. La primera, consiste en llevar a un estado de excitación a las moléculas de una solución acuosa de la muestra mediante la aplicación de energía en forma térmica, por medio de una llama, la muestra a alta temperatura se irradia con una luz a la longitud de onda a la cual el elemento en interés absorbe energía y ésta es medida. Su ventaja radica e sus bajos costos, presenta sensibilidades, límites de detección y cuantificación aceptables, es la técnica analítica más utilizada para la identificación de metales en diversos tipos de matrices. No obstante, sólo se pueden realizar análisis cuantitativos, lo que restringe su uso en la identificación de analitos o análisis cualitativos [Kmetov *et al.*, 2003].

En ICP-OES se lleva a cabo la vaporización, disociación, ionización y excitación de los diferentes elementos químicos de una muestra en el interior de un plasma. Durante el proceso los átomos neutros e iones en el interior de un plasma producen emisiones de radiación electromagnética en la zona del UV-visible. Estas radiaciones, características de cada elemento, se separan en función de su longitud de onda y finalmente se mide su intensidad. La selección de la longitud de onda nos permite determinar el metal cualitativamente, mientras que la intensidad de la radiación emitida nos proporcionará la información para poder cuantificarlo. Es una técnica analítica multielemental, muy rápida y con bajos límites de detección, aunque también muestra desventajas como los alto costos en consumibles, laborioso tratamiento de muestra y complejidad instrumental [EMA, 2008].

### **1.5. Calidad analítica en estudios ambientales**

La calidad analítica es definida en 2010 por Sardans *et al.*, 2010 como el grado en el que los datos resultantes de un proceso de medición te permiten tomar decisiones correctas para el propósito establecido, razón por la cual, los laboratorios deben tener la capacidad de generar datos con garantía de calidad analítica que faciliten las medidas necesarias para el control de la contaminación. Una estrategia para asegurar la calidad analítica son las comparaciones entre distintas técnicas analíticas y su eficiencia analítica para diferentes elementos, siendo una herramienta útil para la validación de las mismas [Miller y Miller, 2002; Macedo-Miranda *et al.*, 2009; Gerboles *et al.*, 2001].

Validar un método analítico consiste en verificar y documentar su validez, esto es, su adecuación a determinados requisitos, previamente establecidos por el usuario, para poder resolver un problema analítico particular. Estos requisitos son los que definen los parámetros de calidad que deben poseer el o los métodos a utilizar para resolver un problema. Estos parámetros de calidad pueden ser de tipo estadístico (exactitud, precisión, selectividad, límites de detección/cuantificación y linealidad) u operativo/económico (inversión, mantenimiento, facilidad de uso, rapidez y simplicidad) [Maroto, 2002].

Hoy en día, muchos estudios de investigación confían en técnicas analíticas, particularmente, las de carácter multielemental, que poseen gran flexibilidad, rapidez y límites de detección bajos, las cuales se aplican a menudo a los estudios ambientales, biológicos y toxicológicos; por esto los resultados analíticos deben poseer una estimación realista de su incertidumbre. Como también ocurre con cualquier técnica analítica, la calidad de los resultados depende de todos los pasos del proceso analítico, principalmente, la calibración, preparación de la muestra y evaluación de los espectros, esto se traduce en la evaluación de los errores inherentes a las mediciones teniendo en cuenta el proceso analítico de forma global [Miller y Miller, 2002; Tejeda *et al.*, 2010].

Asimismo, Sansoni, 1999, en el artículo intitulado *Técnicas Analíticas Nucleares y las relacionadas: una descripción de su aplicación en la investigación y monitoreo ambiental*, realiza la comparación entre técnicas analíticas dirigidas al escudriñamiento ambiental, como influye el hecho de que el material para estudios ambientales sea extremadamente variado y de composición diversa, dependiendo siempre, de los factores de su entorno. También, los

errores que ocurren con frecuencia durante el análisis químico son la preparación de la muestra y la incorrecta evaluación de los datos. Por ello Harvey *et al.*, 2002 propone como criterios de evaluación para la elección de la técnica analítica, aspectos técnicos como la exactitud, precisión, especificidad, repetibilidad, sensibilidad, robustez y linealidad de la técnica, así como aspectos con impacto económico como la rapidez, la facilidad de manejo de la técnica y los costos de instrumentación, reactivos e instalación. Por lo que resulta de suma importancia verificar la eficiencia analítica que tiene una técnica, tomando en cuenta el origen de la muestra y lo que se desea cuantificar. Asimismo, en diversas publicaciones está reflejada la importancia que posee la evaluación de la calidad analítica y el desafío que implica encontrar métodos efectivos para identificación cuantitativa, para ello es indispensable que las técnicas analíticas posean una alta detectabilidad, que combinen bajos límites de detección y cuantificación, alta precisión, elevada exactitud, incertidumbre aceptable, alta selectividad y buena repetibilidad [Larrea-Marín *et al.*, 2010].

Con sustento en lo anterior, se puede resaltar que una medición confiable es trascendental para tomar decisiones en pro de la remediación de un problema ambiental, por lo que esta propuesta de investigación tiene por objeto evaluar la calidad analítica de las determinaciones de Cr, Fe, Mn, Cu, Zn, Pb y Hg mediante el uso de técnicas analíticas nucleares y convencionales en musgos -utilizados como indicadores biológicos de contaminación atmosférica- de la ZMVT.

**“Durante centenares de miles de años, el hombre luchó para abrirse un lugar en la naturaleza. Por primera vez en la historia de nuestra especie, la situación se ha invertido y hoy es indispensable hacerle un lugar a la naturaleza en el mundo del hombre”**

*Santiago Kovadloff*

---

---

# ***Justificación***

---

---

## 2. JUSTIFICACIÓN

---

La contaminación atmosférica es la alteración de la atmósfera terrestre por la adición de gases, o partículas sólidas o líquidas en suspensión en proporciones distintas a las naturales que pueden poner en peligro la salud y calidad de vida del hombre, así como a plantas y animales. Esto es un mal que aqueja cada rincón del orbe y la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT) no se encuentra exenta de dicha situación –estimándose la generación de 608,140 toneladas de contaminantes al año-; las principales causas es su acelerado crecimiento industrial, la concentración poblacional, situada como la segunda en importancia en el Estado de México y la quinta a nivel nacional, el incremento del parque vehicular y el alto consumo de combustibles fósiles.

Con base en lo anterior es ineludible emplear de manera conjunta técnicas analíticas seleccionadas sobre criterios como exactitud, precisión, linealidad, sensibilidad, selectividad, disponibilidad de la muestra y del equipo, tiempo y costo, con indicadores biológicos de contaminación atmosférica en pro de evaluar una problemática ambiental. Estos criterios no son independientes entre sí y a menudo es necesario encontrar un equilibrio entre ellos, es por esto que este trabajo evaluó la calidad analítica de las determinaciones de Cr, Fe, Mn, Cu, Zn, Pb y Hg mediante el uso de técnicas analíticas, dos de ellas nucleares y las otras dos convencionales, Análisis por Activación Neutrónica y Fluorescencia de Rayos X en Reflexión Total, así como Espectrofotometría de Absorción Atómica y Espectrometría de emisión por plasma inductivamente acoplado, respectivamente, en musgos -utilizados como indicadores biológicos de contaminación atmosférica- de la ZMVT.

El principal aporte científico del presente radica en el hecho de proporcionar elementos novedosos relacionados con la calidad de los resultados analíticos obtenidos a través de distintas técnicas analíticas en una matriz ambiental compleja en una zona con serios problemas de contaminación, además la calidad y aceptabilidad de los resultados analíticos obtenidos permitirán sustentar las estimaciones de los potenciales riesgos ambientales. El análisis químico y su comparación son primordiales en la evaluación de dichos riesgos y en la toma de decisiones que puedan prevenir a la población de la ZMVT frente a escenarios drásticos de contaminación del aire. Asimismo, esto se reflejó en la publicación de un artículo en revista internacional con arbitraje, justificando su impacto científico.



*“Cuanto más alto coloque el hombre su meta, tanto más crecerá”*  
*Johann C. Friedrich von Schiller*

---

---

# *Hipótesis y Objetivos*

---

---

### 3. HIPÓTESIS

---

Las técnicas analíticas nucleares mostrarán una mejor calidad analítica en las determinaciones de Cr, Fe, Mn, Cu, Zn, Pb y Hg en musgos de la ZMVT comparativamente con las técnicas analíticas convencionales.

### 4. OBJETIVOS

---

#### 4.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la calidad analítica de las determinaciones de Cr, Fe, Mn, Cu, Zn, Pb y Hg empleando técnicas analíticas nucleares y convencionales en musgo de la ZMVT.

#### 4.2. OBJETIVOS PARTICULARES

**4.2.1.** Determinar la concentración del Cr, Fe, Mn, Cu, Zn, Pb y Hg en el musgo de la ZMVT a través de técnicas analíticas nucleares - Análisis por Activación Neutrónica y Fluorescencia de Rayos X en Reflexión Total- y convencionales - Espectrofotometría de Absorción Atómica y Espectrometría de emisión por plasma inductivamente acoplado-.

**4.2.2.** Comparar los parámetros de desempeño (límites de detección y cuantificación, exactitud, precisión y linealidad) de las técnicas analíticas comprendidas.

**4.2.3.** Analizar estadísticamente las determinaciones de las concentraciones de Cr, Fe, Mn, Cu, Zn, Pb y Hg con técnicas analíticas nucleares y convencionales en el musgo de la ZMVT.

**4.2.4.** Evaluar la calidad analítica de los resultados obtenidos en función de su análisis estadístico y de los parámetros de calidad de cada técnica analítica involucrada.

*“Es de sentido común elegir un método y probarlo. Si falla, admitirlo francamente y probar con otro. Pero, sobre todo, intentar algo”*

*Franklin D. Roosevelt*

---

---

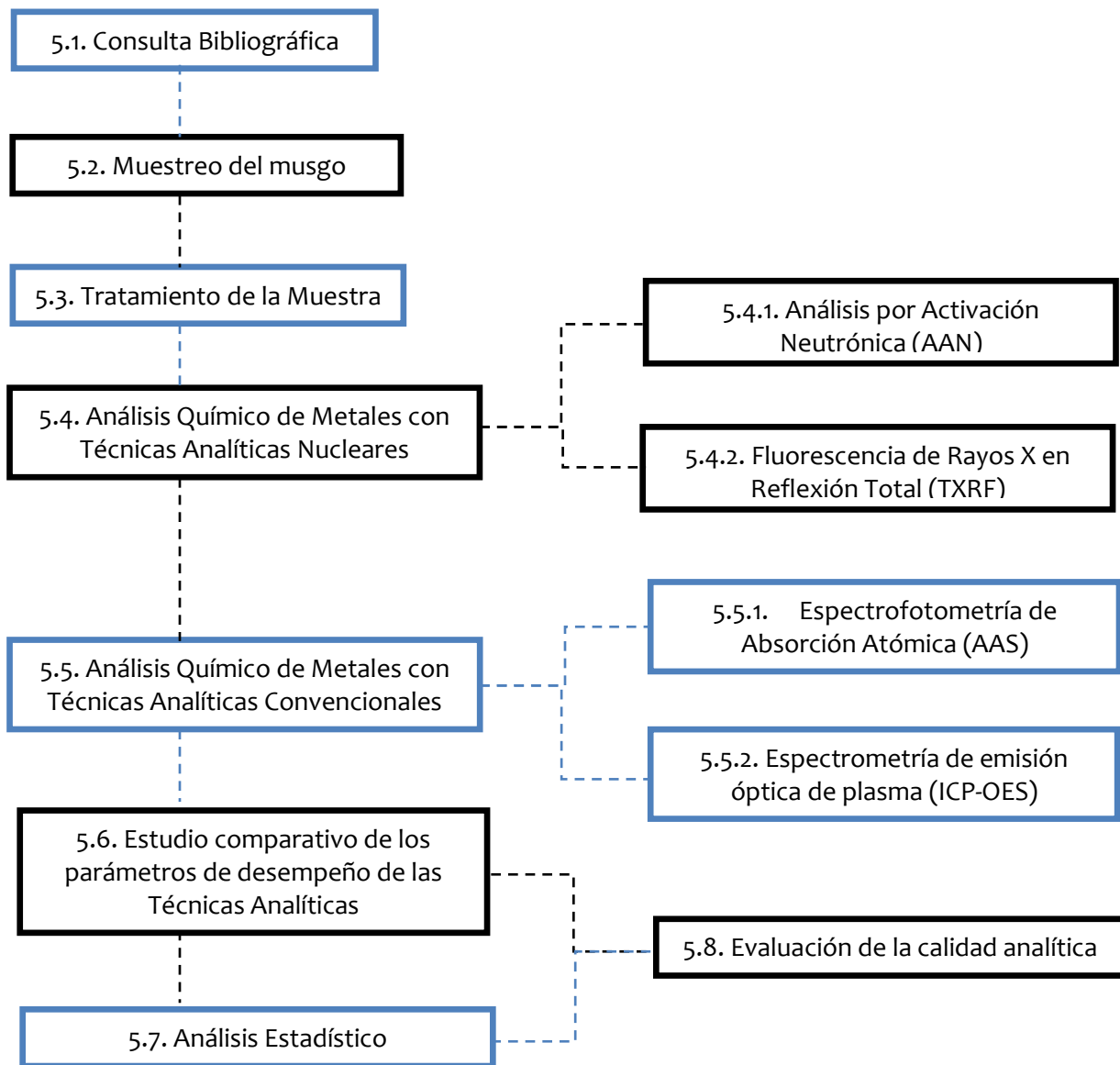
# ***Metodología***

---

---

## 5. METODOLOGÍA

En la **Figura 5.1** se presenta de forma general la metodología que se siguió en el presente trabajo de investigación, después se detalla cada punto:



**Figura 5.1.** Esquema General del proyecto

### 5.1. Consulta bibliográfica

En esta primera parte se reunió y examinó información referente a: contaminación atmosférica por metales pesados, bioindicadores, aspectos generales de la zona de estudio,

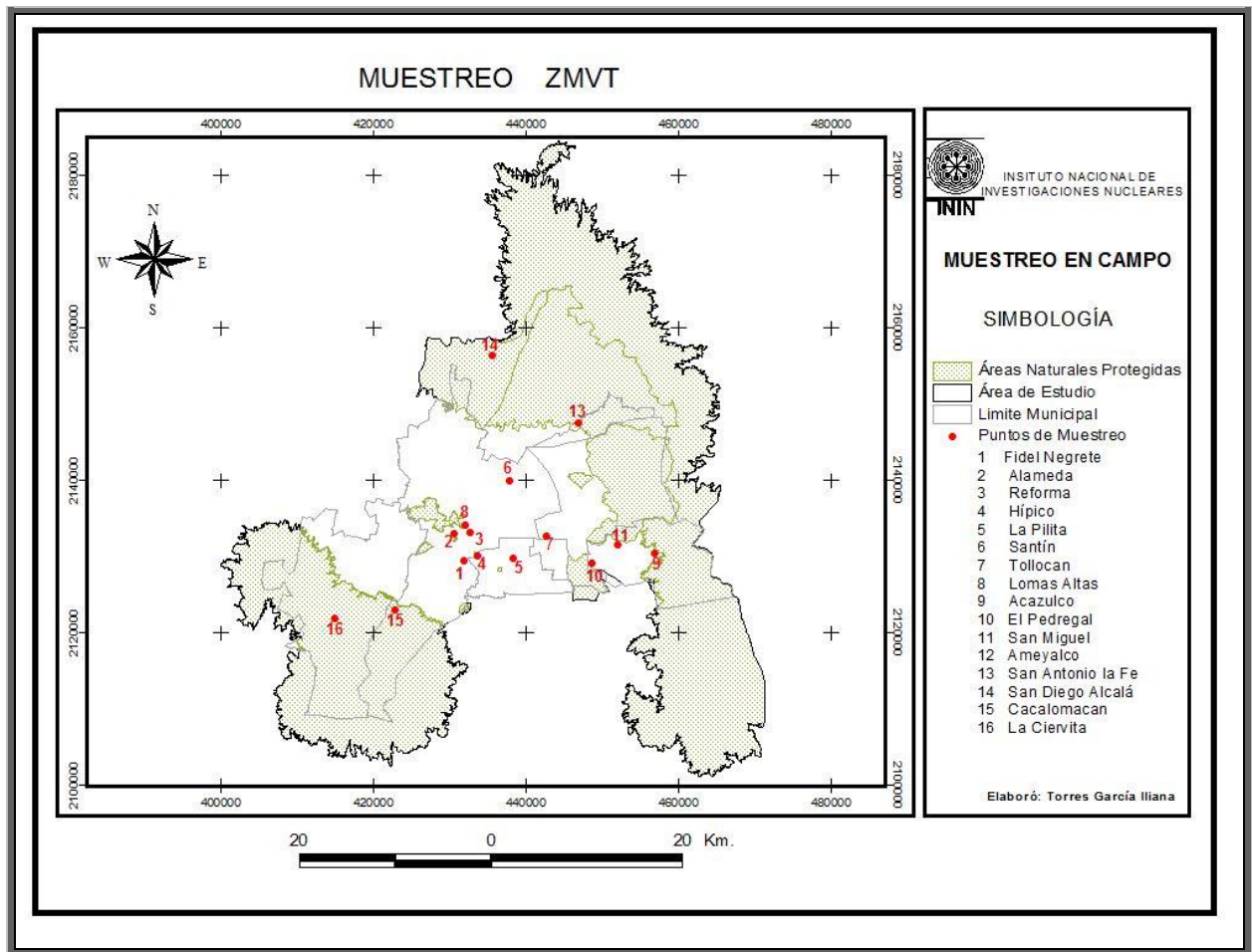
técnicas analíticas y su intercomparación, calidad analítica y parámetros que la miden, así como cualquier tema que apoyara la realización de este proyecto.

## 5.2. Muestreo del musgo

Con base en las características actuales de la contaminación atmosférica de la ZMVT, el plan de muestreo incluyó un total de 16 estaciones de muestreo catalogadas por tipo de sitio: urbano, de transición y natural/protegido, dichos criterios fueron tomados del Plan regional de desarrollo urbano del Valle de Toluca [GEM, 2005]. Lo anterior se describe en la **Tabla 5.1** y se aprecia en la **Figura 5.2**.

Tabla 5.1. Localización de la Estaciones de Muestreo						
No.	Nombre de acuerdo a Cartas Topográficas y Cartografía existente	Tipo de sitio	Nombre Corto	Coordenadas		Altitud msnm
				Lat N	Long W	
1	P. Fidel Negrete, Colonia Azteca, Toluca	Urbano	Fidel Negrete	2129427	0431763	2685
2	P. Alameda, Colonia la Merced, Toluca		Alameda	2133062	0430448	2662
3	P. Reforma, Colonia Ferrocarriles Nacionales, Toluca		Reforma	2133176	0432588	2644
4	P. Hípico, Colonia Hípico, Metepec		Hípico	2130170	0433610	2668
5	P. La Pilita, Colonia San José la Pila, Metepec		La Pilita	2129735	0438249	2623
6	Ex-Rancho Santín Toluca		Santín	2139978	0437812	2596
7	(Camellón Tollocan) Colonia Emiliano Zapata, Lerma		Tollocan	2132623	0442543	2589
8	Colonia Lomas Altas, Toluca	Transición	Lomas Altas	2134171	0431978	2676
9	San Jerónimo Acapulco, Ocoyoacac		Acapulco	2130415	0456813	2740
10	El Pedregal de Guadalupe Hidalgo, Ocoyoacac		El Pedregal	2129112	0448542	2579
11	San Miguel Ocoyoacac		San Miguel	2131541	0451981	2683
12	Ameyalco		Ameyalco	-	-	-
13	San Antonio la Fe, Xonacatlan	Natural/ Protegido	San Antonio la Fe	2147604	0446870	2705
14	San Diego Alcalá, Temoaya		San Diego Alcalá	2156378	0435540	2744
15	P. Ejidal Cacalomacan, Toluca		Cacalomacan	2123038	0422770	3100
16	La Ciervita, Zinacantepec		La Ciervita	2121835	0414849	3317

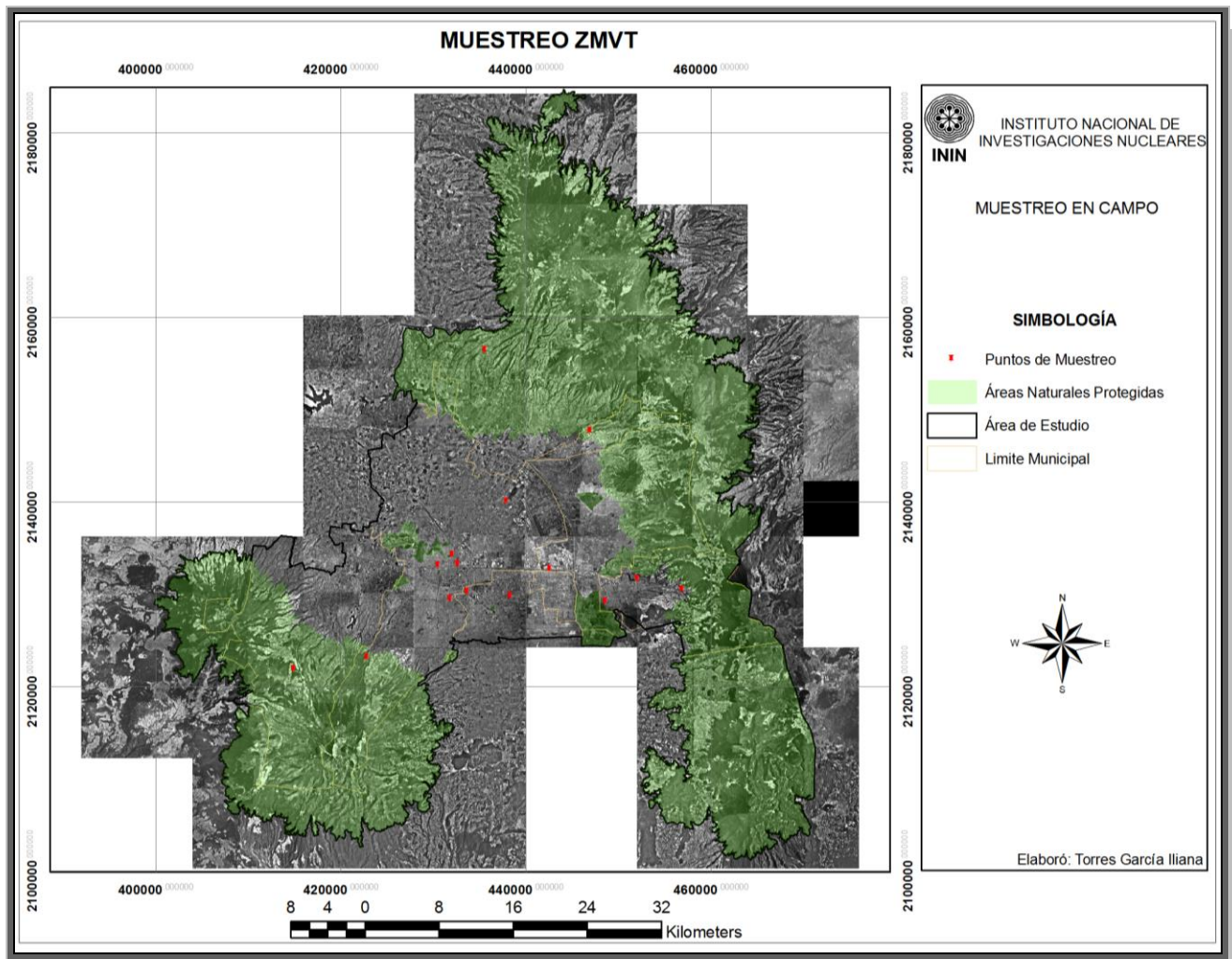
En la **Figura 5.3** se aprecia el mapa del área de estudio con relación a las áreas naturales protegidas de la ZMVT y a los límites municipales de la misma.



**Figura 5.2.** Mapa de la ubicación de las estaciones de muestreo en la ZMVT [Ávila, 2009]

El muestreo se realizó en dos periodos distintos, la primera campaña de muestreo fue en el mes de noviembre del año 2010, cuya época climática corresponde a la seca-fría; mientras, que la segundo fue durante la época de lluvias de la ZMVT, en el mes de agosto de 2011. La selección de las muestras de musgo epifito - situado en árboles a una altura mayor de 1 m como lo refiere Spagnuolo *et al.*, 2009- se apoyó en el porcentaje de cobertura arbórea, es decir, en su abundancia en los sitios de muestreo, la posición respecto a las corrientes de aire y las fuentes de contaminación de la zona, esto es recomendado en el 2003 por Buse *et al.*, así como por Fernández *et al.*, 1999. Las especies identificadas por la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEMéx) y seleccionadas para esta investigación fueron: *Leskea Angustata* y *Fabriona Ciliaris*.

En cada sitio se seleccionaron de forma aleatoria 10 árboles de los cuales se obtuvo la muestra de musgo epifito para evitar la pérdida de organismos se extrajo con todo y su sustrato con ayuda de espátulas previamente lavadas para evitar contaminación de la muestra. Se colocó la muestra de musgo en bolsas de polietileno, en cada una de éstas se registró el lugar de muestreo, la fecha de colecta y las características ecológicas del sitio como lo recomienda Delgadillo y Cárdenas, 2000, posteriormente, se transportaron al laboratorio para su análisis.



**Figura 5.3.** Mapa de la ubicación del área de estudio con respecto a las áreas protegidas naturales de la ZMVT [Ávila, 2009]



### 5.3. Tratamiento de las muestras

Las muestras de musgos fueron sometidas a un proceso de limpieza, para ello se procedió a separar con pinzas las colonias de musgos, sugerido por Kempter *et al.*, 2010, desde el rizoma hasta el esporofito de los fragmentos de corteza, rehidratándose con agua destilada como se observa en la **Figura 5.4**. En seguida se realizó un lavado ligero con agua destilada para eliminar cualquier residuo de sustrato que pudiera estar adherido al musgo referido por Migaszewski *et al.*, 2010.



**Figura 5.4.** Limpieza de la muestra [Elaboración propia, 2013]

Posteriormente, las muestras de musgo se dejaron secar a temperatura ambiente durante 48 horas para eliminar el agua del organismo como lo cita Gałuszka en 2007, éstas fueron molidas en un mortero de ágata y homogeneizadas mecánicamente en una homogeneizadora marca Spex durante 10 minutos (**Figura 5.5**). Ulteriormente, el tratamiento dependió de la técnica analítica empleada para la evaluación de concentración de metales en el musgo.





**Figura 5.5.** Molido y Homogenización de la Muestra [Elaboración propia, 2013]

#### 5.4. Análisis Químico de Metales con Técnicas Analíticas Nucleares (AAN y TXRF)<sup>oo</sup>

##### 5.4.1. Análisis por Activación Neutrónica (AAN)

En la primera fase del AAN se prepararon los materiales de referencia certificados (MRC) y las muestras de estudio para su posterior irradiación. Los MRC empleados fueron el IAEA-336 (Lichen) y el SRM-1573 (Tomato leaves) utilizados, también, por Anicic *et al.*, 2009.

Se utilizaron ampollas de cuarzo de 9 mm de diámetro y 6 cm de largo con capacidad máxima de 0.15 g donde se introdujeron las muestras de musgo, dichas ampollas fueron tratadas químicamente con la finalidad de eliminar todas las impurezas presentes, el tratamiento consistió en un lavado con agua y su contacto por 15 días con ácido clorhídrico al 2%, después se enjuagaron con agua deionizada y se sumergieron en ácido nítrico al 2% durante 15 días, luego fueron lavadas con agua deionizada y secadas en la estufa a 100 °C. Se adicionó 40 mg de muestra a la ampolleta, ésta se sella con calor para encapsular en su interior la muestra y se enjuagan con agua deionizada, a continuación se colocaron en contenedores de aluminio con un lastre de plomo en el fondo.

El proceso de irradiación correspondió a la segunda fase del AAN, donde los contenedores de aluminio se entregaron a la consola del reactor nuclear TRIGA MARK-III del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares de México, se colocaron en la posición experimental del Sistema Fijo para Irradiación de Cápsulas (SIFCA); con un flujo de neutrones térmico de  $0.9 \times 10^{13} \text{ n/cm}^2\text{s}$  e irradiados durante 20 horas. Al concluir la irradiación cada contenedor de aluminio fue resguardado en un blindaje de plomo durante 5 días o más para impedir una

sobrexposición a radiaciones ionizantes, permitir que decaigan los radioisótopos de vida media corta y no interfirieran en la medición de la actividad de las muestras.

La tercera fase en esta técnica analítica corresponde a la medición de la actividad de las muestras con espectrometría gamma, realizándose con el método del comparador, éste facilita dicha medición y consiste en irradiar simultáneamente comparadores, es decir los MRC de peso conocido, con la muestra de composición desconocida y peso conocido en posiciones muy próximas dentro del detector de germanio hiperpuro (GeHP) y bajo las mismas condiciones. A través de los programas Gamma Vision 5.10, Nuclide Navigator 3.0 de RTEC y Hypermet-PC es posible extraer la información necesaria de cada muestra, tanto cualitativa como cuantitativamente; Gamma Vision 5.10 permite la obtención de los espectros elementales de radiación gamma, Nuclide Navigator 3.0 de ORTEC y las tablas de energía existentes en la literatura hacen posible la identificación de los picos de los espectros gamma. Mientras, Hypermet-PC, donde se realiza la obtención del área bajo la curva de las señales de interés, y el programa “Evalúa y Límites” basados en los métodos de Covell para la integración de las áreas y el método Currie para la determinación del límite de detección, desarrollado en el Departamento de Soporte Técnico y Mantenimiento Electrónico del ININ y donde se alimentan los parámetros del análisis de la muestra y el patrón, facilitan la cuantificación.

#### **5.4.2. Fluorescencia de Rayos X en Reflexión Total (TXRF)**

En lo que respecta al análisis por TXRF se pesó 0.3 g de muestra, éstas fueron digeridas en horno de microondas marca CEM® modelo MARS-X con 1200 W de máxima potencia, se acondicionó una rampa de temperatura durante 20 minutos, temperatura de 200 °C, presión de 180 psi y un tiempo de mantenimiento de 15 minutos. El proceso de digestión contó con dos etapas; se añadieron 4 mL de ácido nítrico y 1 mL de ácido clorhídrico en la primera etapa; posteriormente se agregó 1.5 mL de peróxido de hidrógeno, esto correspondió a la segunda etapa.

El resultado de la mencionada digestión fue una solución con dos fases: el sobrenadante y el precipitado, éste fue lavado con agua desmineralizada, centrifugado y decantado con el sobrenadante para luego aforar a 10 mL.

El método de cuantificación fue el método de estandarización interna o sensibilidades teóricas por estándar interno, eligiéndose al Ge como estándar interno, debido a que no está presente en las muestras [Klockenkämper, 1997]. Durante la estandarización se tomó una alícuota de 1 mL solución de muestra previamente digerida y se adicionó 100 µL de una solución estándar de Ge, se sometió a agitación durante 3 minutos con la finalidad de homogenizar [Szoboszlai et al., 2009].

Consecutivamente, el análisis multielemental de las muestras se realizó en el espectrofotómetro de fluorescencia de rayos X, marca *Ital-Strucures*, modelo TX-200, con un tubo de molibdeno como fuente de excitación operado a 40 kV y 30 mA [Zarazúa, 2001]. Los rayos X derivados de la muestra se detectaron y para el análisis de los espectros encontrados se empleó el software EDXRF-32. Tres replicas fueron preparadas para cada muestra con un tiempo de conteo de 500 s.

## **5.5. Análisis Químico de Metales con Técnicas Analíticas Convencionales (AAS y ICP-OES)<sup>oo</sup>**

### **5.5.1. Espectrofotometría de Absorción Atómica (AAS)**

Las muestras de musgo, previamente, homogenizadas fueron sometidas a un proceso de digestión cerrada, acelerada por microondas en un horno marca CEM® modelo MARS-X en vasos digestores Omni XP1500 y programando rampa de temperatura a 200 °C. Se pesó por duplicado 0.25 g de muestra, llevándose a cabo en dos etapas consecutivas. La primera etapa tuvo una duración aproximada de 45 min y se adicionó 2 mL agua desionizada, 5 mL de ácido nítrico y 1 mL de ácido fluorhídrico grado ulltrapuro. La segunda etapa del proceso de digestión duró 20 min y se adicionó 15 mL de ácido bórico al 4% con la finalidad de neutralizar la solución resultante [Kulkarni et al., 2007].

A continuación se tomó una alícuota de 5 mL, aforándose a 50 mL; para determinar la concentración de los metales presentes se realizaron las lecturas de las disoluciones resultantes en el espectrofotómetro de absorción atómica, marca Perkin Elmer modelo 3110 con técnica de flama y utilizando para el control de calidad un estándar certificado. La cuantificación fue a través de la realización de curvas de calibración preparadas con soluciones estándar del elemento de interés con cinco distintas concentraciones.

Las longitudes de onda de absorción empleadas en el análisis químico son reportadas en la **Tabla 5.2.**

<b>Tabla 5.2. Longitudes de onda de absorción para el análisis químico por AAS</b>	
<b>Elemento</b>	<b>Longitud de onda (nm)</b>
Cr	357,9
Pb	283,3
Zn	213,9

### **5.5.2. Espectrometría de emisión óptica de plasma (ICP-OES)**

Se pesó 0.5 g de muestra y agregó 5 mL de ácido nítrico, 2 mL de ácido clorhídrico y 1 mL de ácido fluorhídrico (reactivo recomendado ampliamente para este tipo de matriz por Krachlera *et al.*, 2002), colocándose en contenedores de teflón, luego, las muestras se sometieron a una digestión cerrada, acelerada por microondas en un horno marca CEM® modelo MARS-5, después se llevaron a sequedad y se recuperaron con 2 mL de ácido nítrico y 2 mL de ácido clorhídrico; las soluciones resultantes se aforaron a 25 mL y se leyeron a las concentraciones de los analitos de interés con un Espectrofotómetro de emisión óptica de plasma de tipo axial Thermo Jarell Ash Corporation modelo Atomscan Advantage. Las condiciones instrumentales empleadas fueron: velocidad de flujo auxiliar de 1.0 L min<sup>-1</sup>, flujo del plasma de 14 Lmin<sup>-1</sup>, presión del nebulizador de 30 psi y una potencia de 1150 W. Para el análisis del espectro se utilizará el software Thermo SPEC/PMT 2.1.

La cuantificación fue a través de la realización de curvas de calibración preparadas con soluciones estándar multielementales con cinco distintas concentraciones. Tres replicas fueron preparadas para cada muestra.

<b>Tabla 5.3. Líneas de emisión para el análisis químico por ICP-OES</b>	
<b>Elemento</b>	<b>Longitud de onda (nm)</b>
Cr	267.716
Cu	324.754
Fe	385.991
Mn	294.920
Pb	220.353
Zn	206.200

El estudio de interferencias de matriz para ICP-OES se llevó a cabo para elegir las líneas de emisión más adecuadas, éstas se muestran en la **Tabla 5.2**, a través de la preparación de una “solución sintética o control” lo más aproximada al contenido real de la muestra. La solución control sirvió para obtener la corrección de los resultados de cada una de las muestras.

## **5.6. Estudio comparativo de los parámetros de desempeño de las Técnicas Analíticas<sup>y</sup>**

El control de calidad analítico de cada una de las técnicas se realizó con dos MRC de matriz biológica, los cuales fueron sometidos al mismo tratamiento y procedimiento analítico que las muestras de musgo de la ZMVT. Los MRC son el IAEA-336 (Lichen), elaborado por International Agency Energy Atomic (IAEA) y el SRM-1573 (Tomato leaves) elaborado por National Bureau of Standards (NBS).

Se determinaron y compararon los parámetros de desempeño o de calidad -definidos por Rozet *et al.* en 2011, como propiedades, características o capacidades cuantificables del método que indican su grado de calidad- como parte del control de calidad analítico de los métodos empleados tanto para las técnicas analítica nucleares como las convencionales. Los parámetros de desempeño estipulados en el presente trabajo se enlistan a continuación: [GVMA, 2002; Miller y Miller, 2002, Larrea-Marín *et al.*, 2010].

**5.6.1.** Exactitud, es un parámetro que indica la proximidad de los resultados obtenidos comparado con un valor considerado como real; se evalúa a través de estudios de recuperación, los cuales fueron realizados para cada técnica analítica.

**5.6.2.** Precisión – es el grado de variabilidad o de separación entre la mediciones realizadas empleando un método analítico y trabajando a condiciones normales de operación-, este parámetro se expresa en términos de desviación estándar relativa (DER%) o coeficiente de variación (CV%), por lo que se comparó la DER% de cada técnica analítica para determinar su precisión.

**5.6.3.** Linealidad, capacidad de un método analítico para obtener resultados directamente proporcionales a la cantidad del analito presente en la muestra y se evaluó mediante el análisis de regresión lineal de las curvas de calibración.

**5.6.4.** Límites de detección y cuantificación, definidos como el valor mínimo detectado por la técnica analítica y el valor mínimo detectado y cuantificado con precisión y exactitud aceptables, respectivamente. Estos parámetros de calidad se evaluaron según los requerimientos de la técnica analítica.

## **5.7. Análisis estadístico\***

Los resultados analíticos de las muestras de musgo de la ZMVT fueron procesados a través del programa estadístico Statgraphics Plus, determinándose si existen diferencias significativas, a través de un diseño de experimento unifactorial, entre las técnicas analíticas, los sitios de muestreo y la época climática de muestreo con un nivel de confianza del 95%. Las pruebas estadísticas fueron paramétricas (ANOVA), no paramétricas (Kruskal-Wallis), pruebas de normalidad (Ji-cuadrada), de homogeneidad de varianzas (Bartlett) y análisis de regresión lineal con una significancia de 0.05, realizadas con la finalidad de evaluar los errores asociados a la experimentación y tener una incertidumbre realista de las mediciones realizadas con cada técnica analítica. [Gutiérrez-Pulido y De La Vara-Salazar, 2008; Miller y Miller, 2002; Rozet *et al.*, 2011; Antosz *et al.*, 2012].

## **5.8. Evaluación de la calidad analítica<sup>++</sup>**

Mediante la interpretación de los resultados obtenidos en función de la comparación de los parámetros de desempeño o de calidad, el análisis estadístico y los criterios operativo/económico de cada técnica analítica involucrada se determinó la calidad analítica [Maroto, 202; Harvey *et al.*, 2002].

---

<sup>oo</sup> Se cumple el objetivo 4.2.1

<sup>y</sup> Se cumple el objetivo 4.2.2

<sup>\*</sup> Se cumple el objetivo 4.2.3

<sup>\*\*</sup> Se cumple el objetivo 4.2.4

*“Nuestra recompensa se encuentra en el esfuerzo y no en el resultado. Un esfuerzo total es una victoria completa”*

*Mahatma Gandhi*

---

---

# *Resultados y Discusión*

---

---

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

### 6.1. Artículo Científico

#### 6.1.1. Correo electrónico de confirmación de la recepción del artículo

De: em.jrnc.0.34d453.99ed189f@editorialmanager.com  
[mailto:em.jrnc.0.34d453.99ed189f@editorialmanager.com] En nombre de Journal  
of Radioanalytical & Nuclear Chemistry (JRNC)  
Para: Pedro Avila Pérez  
Asunto: JRNC - **Submission Confirmation**

Dear Dr. Pedro Avila Pérez,

Thank you for submitting your manuscript, **Metal content in mosses from the Metropolitan Area of the Toluca Valley: a comparative study between inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) and total reflection X-ray fluorescence spectrometry (TXRF)**, to Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry.

During the review process, you can keep track of the status of your manuscript by accessing the following web site:

<http://jrnc.edmgr.com/>

Your username is: PAvila-395

Should you require any further assistance please feel free to e-mail the Editorial Office by clicking on "Contact Us" in the menu bar at the top of the screen.

With kind regards,  
Springer Journals Editorial Office  
Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry



## 6.1.2. Manuscrito enviado

### **Metal content in mosses from the Metropolitan Area of the Toluca Valley: a comparative study between inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) and total reflection X-ray fluorescence spectrometry (TXRF)**

**B. Caballero-Segura<sup>a,b</sup>, P. Ávila-Pérez<sup>ad\*</sup>, C. Barrera<sup>c</sup>, J. Ramírez<sup>b</sup>, G. Zarazúa<sup>a</sup>, R. Soria<sup>a</sup>, H.B. Ortiz-Oliveros<sup>a</sup>**

<sup>a</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, Apartado Postal 18-1027, México D.F., C.P. 11801, México. e-mail: [pedro.avila@inin.gob.mx](mailto:pedro.avila@inin.gob.mx)

<sup>b</sup>Facultad de Química, UAEMéx, Paseo Colón esq. Paseo Tollocan S/N C.P. 50120 Toluca de Lerdo, México.

<sup>c</sup>Centro de Investigación de Química Sustentable, Km 14.5 Carr. Toluca-Atacomulco C.P. 50200 Toluca, Méx.

<sup>d</sup>Instituto Tecnológico de Toluca, División de Estudios de Posgrado e Investigación, Apartado Postal 890, C.P. 52140 Metepec, México, México.

The comparison between inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) and total reflection X-ray fluorescence spectrometry (TXRF) for simultaneous determination of metal content (Cr, Cu, Fe, Mn, Pb and Zn) in mosses from the Metropolitan Area of the Toluca Valley was performed. Epiphytic mosses (*Fabriona ciliaris* and *Leskea angustata*) were sampled in two campaigns and were prepared with different acid digestions for each technique. The biological standard reference materials (SRMs) were used for the quality control and to evaluate accuracy and precision. Linearity, detection and quantification limits were also determined. Results show that ICP-OES and TXRF accuracy mean of  $101\pm 5$  percent and  $97\pm 9$  percent, respectively; the relative standard deviation (RSD percent) was less than 17 percent in both techniques. The mosses samples exhibit a satisfactory precision ( $RSD\leq 10$  percent) with both techniques. One factor experimental design and simple regression analysis ( $\alpha= 0.05$ ) was used to compare the ICP-OES and TXRF metal concentrations. The statistical results do not show significantly different values for Cu, Mn, Pb and Zn in both the sample campaigns. In addition, the results for Cr in the first sample campaign ( $30.3\pm 11.4$  mg/kg for ICP-OES and  $18.6\pm 9.8$  mg/kg for TXRF) and Fe values in the second sample campaign ( $10806\pm 2978$  mg/kg for ICP-OES and  $8375\pm 2349$  mg/kg for TXRF) were significantly different in both techniques. These differences are attributed to the sample digestion carried out in TXRF. The results of the simple regression analyses show p-value less than 0.05, which indicates an equivalent and significant relation between ICP-OES and TXRF.

**Keywords:** inductively coupled plasma optical emission spectrometry, total reflection X-ray fluorescence, analytical quality, air pollution, mosses, heavy metals.

## 1. Introduction

Metals enter into the atmosphere from a variety of sources, such as the natural process of the biogeochemical cycle, anthropogenic contributions, industrial, also agricultural and urban activities [1,2]. Exposure to atmospheric deposition of metals contributes to a variety of adverse health effects that range from eye irritations, asthma, lung cancer, cardiopulmonary disease and even death. Therefore, the monitoring of the concentration of metals is important in the assessment of the damage on terrestrial and aquatic ecosystems and the possible transfer to humans [3,4].

Air pollution monitoring is costly and requires sophisticated scientific equipment to obtain accurate measurements. The concept of using mosses for biomonitoring is based on the fact that there are organisms mainly used for the quantitative determination of contaminants [5-9]. The mosses obtain nutrients directly from precipitation and dry deposition and they have a large surface area in contact with the atmosphere and the ability to accumulate elements in high concentrations. Other advantages is that they have a vast geographical distribution, and they grow abundantly in various natural habitats, even in industrial and urban agglomerations [10,11]. The present area of study is located in the Central region of Mexico, between 19° 00' 01'' and 19° 45' 19'' North Latitude and 99° 16' 30'' and 99° 57' 23'' West Longitude. The Metropolitan Area of the Toluca Valley (MATV) occupies an area of 1,208.55 km<sup>2</sup> and is an active urban and industrial zone with serious problems of atmospheric particulate matter and metal pollution [12].

To evaluate the environmental risks of air pollution and to facilitate the decision-making for control, it is necessary to have the capacity to generate data with analytical quality. Reliable, fast and multi-elemental methods for the determination of such analytes in biological matrix are useful. Due to the wide range of concentrations and to the matrix complexity, the most versatile, suitable and sensitive analytical techniques are the inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) and total reflection X-ray fluorescence spectrometry (TXRF). However, both exhibits disadvantages in cost. Complexity of instruments required certain limitations due to spectral and non-spectral interferences and the laborious sample pretreatment. These effects occasionally result in inaccurate determinations [13-17].

Therefore, even when the analysis is being performed consistently, the limitation due to measurement uncertainty always leads to some doubt about the result. Therefore, the analytical

comparative exercises frequently overlooked to determine the available analytical techniques that have been used to quantify the elements present in these kinds of samples. The simultaneous determination is one of the major potentialities of chemometrics, for this, the accuracy, precision, linearity and detection limits are parameters that should be taken into account to recommend one or another technique [18-20].

In view of these circumstances, the aim of this study is to compare TXRF and ICP-OES measurements in order to evaluate the analytical performance results, by means of the analysis of Cr, Cu, Fe, Mn, Pb and Zn in moss samples of the Metropolitan Area of Toluca Valley.

## **2. Experimental**

### *2.1. Sampling*

Moss samples were collected from eleven sites in urban parks and natural protected areas of the MATV (Figure 1). Two sample campaigns were carried out in each site in a period of a year. The first and second sample campaigns were done in August and November, that corresponding to rainy and dry-cold season respectively. The main two dominant species of epiphytic mosses (*Fabriona ciliaris* and *Leskea angustata*) were collected. Ten grams of epiphytic mosses were collected from six to ten trees in a height greater than one meter. Moss samples were removed from the tree using a plastic spatula and placed in polythene bags for transport to the laboratory. During sampling, observations of habitat type and relative density of moss carpets were performed.

### *2.2. Sample preparation*

The moss samples were prepared in the laboratory using a general procedure: (i) they were separated from the tree bark with plastic pincers. (ii) additionally, they were carefully washed with deionised water to remove outer contamination i.e soil particles, pollen, insects, etc. (iii) then they were put through a process of drying at ambient temperature. (iv) thereafter, samples were pulverized in an agate mortar and homogenized in an automatic mixer for ten minutes. (v) finally, the samples were accurately weighed, for further chemical analysis.

#### *2.2.1. ICP-OES sample preparation*

0.5g of each sample was mixed with 5ml of HNO<sub>3</sub>, 2ml of HCl and 1ml of HF, then sealed in a Teflon vessel and digested in a “CEM-Mars-5” microwave oven at 1200W, and increasing the pressure from 276kPa to 586kPa then 827kPa and finally 10kPa, with 10-15mins of maintenance time respectively; the digested samples were placed in a flat furnace at 60°C until totally dried, they were then mixed with 2ml of HNO<sub>3</sub>, 2ml of HCl at a volume of 25 mL. Only supra pure grade quality chemicals were used.

### *2.3.2. TXRF sample preparation*

The digestion process consists of two stages: (i) the first, a sample of moss weighing 0.3 g was taken and was added 4ml of HNO<sub>3</sub> and 1ml of HCl (ii) after that, was added 1.5ml of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, then sealed in a Teflon vessel and was digested in a “CEM-Mars-X” microwave oven at 1200W and increasing the temperature at 20min to 200°C (1241 kPa) including 15mins of maintenance time. The digested sample was centrifuged for 5min to 80rpm. The digested sample was transferred into a volumetric flask, the reaction vessels were washed out with deionised water and the flask volume made up to a final volume of 10ml. 100µL of Ga standard solution (Merck) of 10µg/mL, was added as internal standard to 1ml subsample of the digested samples and mixed. After that, 20µL of the digested water sample was deposited on a silicon quartz glass holder, and dried under infrared light. Only supra pure grade quality chemicals were used.

## *2.3. Sample analysis*

### *2.3.1. ICP-OES analysis*

The ICP-OES instrument used in order to obtain the Cr, Cu, Fe, Mn, Pb and Zn concentration was a Thermo Jarell Ash Corporation model Atomscan Advantage axial type. Sample solutions were transported with a peristaltic pump and aspirated cross-flow nebulizer into the argon plasma. The next instrumental conditions were employed: sample uptake of 1.8 mlmin<sup>-1</sup>, auxiliary flow rate of 1.0 Lmin<sup>-1</sup>, plasma flow rate of 14 Lmin<sup>-1</sup>, nebulizer pressure of 207kPa and generator power of 1150W. For the analysis of the spectra, the software Thermo SPEC/PMT 2.1 version was used. Three replicates were prepared for each sample in order to estimate the precision of measurements. In order to evaluate the linearity, multi-elemental standard solutions were used for the calibration curves with five different concentrations; the data was subjected to linear regression.

### 2.3.2 TXRF analysis

The TX 2000 X-Ray Spectrometer manufactured by Ital Structures was used in order to obtain the elemental concentration. A primary fine focus beam provided by the X-Ray tube with a molybdenum anode is monochromatised and is directed to the sample at a glancing angle less than the critical angle. The tube was operated at 40kV and 30mA. The fluorescent X-Rays derived from the sample were detected with a solid state lithium-drifted silicon detector of 20 mm<sup>2</sup> front area, cooled with liquid nitrogen. The energy resolution (FWHM) of the Si (Li) detector was 140eV for Mn K $\alpha$  and its beryllium window was 8 $\mu$ m thick. For the analysis of the spectra, the software EDXRF32 was used. The alignment procedure was done automatically by the PC and the rotating sample holder allowed the analysis of 12 samples each time [21]. Three replicates were prepared for each sample in order to evaluate the precision of measurements. All samples were excited for 500 s. Heavy metal concentration and detection limits were determined by means of the software “EDXRF32-Ital Structures” using the theoretical “Sensitivities with internal standard” method.

### 2.4. Quality in analytical procedure

One standard reference material (SRM) provided by the International Atomic Energy Agency (IAEA) was selected for quality control based on their biological matrices, IAEA-336 (Lichen). Likewise, SRM-1573 (Tomato leaves) was used for the same purpose. Both SRMs were subjected to identical sample preparation, as previously described [21].

The accuracy and precision of the analytical techniques was performed with SRMs and expressed as the percentage recovery and the relative standard deviation (RSD percent), respectively [22].

### 2.5. Statistical analysis

The F for variance of two samples test for a 95percent confidence level was performed to evaluate the precision in both techniques with SRMs. Likewise, in order to evaluate the effect of the techniques used to obtain the metal concentration in mosses from MATV. One factor experimental design for a 95percent confidence level was used for real moss samples; in the cases that the results proved a normal distribution (Normality test) one-way ANOVA was

performed and with non-parametric results Kruskal Wallis test was used. Also, a simple regression analysis between ICP-OES and TXRF mosses results was performed. Statistical analyses were conducted using the STATGRAPHICS Plus, statistical package.

### **3. Results and Discussion**

#### *3.1. Accuracy comparison*

Table 1, show the ICP-OES and TXRF measured concentrations and the certified values of reference materials and the accuracy. Accuracy was measured as the percentage of recoveries (ratio between values measured and certified in the reference material).

The recoveries obtained with ICP-OES were satisfactory in all cases, the readings were between 92 percent and 108 percent for both SRMs, which indicate that the treatment and analysis method used for this technique produce analytical results with an acceptable accuracy. Analytical results are similar to reported in other studies with biological matrices, which are within the acceptance range of 90–110 percent [23, 24].

The recoveries obtained with TXRF were consistent, readings between 91 percent and 102 percent for both SRMs, which indicate that in general the treatment and analysis method used for this technique produce analytical results with an acceptable accuracy. In the case of Cr and Zn for IAEA-336 (Lichen), recoveries of 81 percent and 119 percent were obtained respectively. Other similar study in vegetation samples, show an average recovery of  $91 \pm 13$  percent, and an uncertainty of the method of  $\pm 20$  percent. For this reason, the Cr and Zn accuracy are acceptable for this kind of environmental samples analysis [25].

#### *3.2. Precision comparison*

Table 2 shows the RSD percent and results of F for variance of two samples test in order to evaluate statistically the precision of the analytical results by both techniques. The RSD percent from 2-15 percent for ICP-OES and from 1-17 percent for TXRF was obtained. Particularly, Cr concentrations show the highest variability by both techniques. However, analytical results are acceptable because in all cases the RSD percent, did not exceed the limit of 20 percent [24].

The F for variance of two samples test with a 95 percent confidence level, indicate that the two techniques do not produce significant differences in variance values for Cr, Cu, Fe and Zn measurements. However, the Mn (30.25 and 67.24) and Pb (0.09 and 0.25) variances in ICP-OES results for both SRMs were significantly different comparative with the Mn (5.29 and 8.41) and Pb (0.0016 and 0.04) variances in TXRF results, which indicates that the precision of TXRF is better for these cases.

### 3.3. Linearity, detection limit ( $L_D$ ) and quantification limit ( $L_Q$ )

Table 3 show the linearity, detection limit ( $L_D$ ) and quantification limit ( $L_Q$ ) results.

The ICP-OES calibration curve was calculated from five points including the blank. The linear determination coefficients were equal or higher than 0.999, these results are higher than 0.995 and as a consequence it was considered acceptable [26].

In case of ICP-OES, the detection ( $L_D$ ) and quantification ( $L_Q$ ) limits were calculated as signals based on the mean blank ( $x_b$ ) and the standard deviation of blank ( $S_b$ ); the detection and quantification limits were obtained by means of equations (1) and (2) [14]:

$$L_D = x_b + 3S_b \quad (1)$$

$$L_C = x_b + 10S_b \quad (2)$$

The ICP-OES detection and quantification capability of the studied elements can be ordered according to following sequence: Cr > Mn > Cu > Zn > Pb > Fe.

TXRF technique use the internal standard method, is suitable for fast multi-elemental analysis and it does not need special calibration [27]. In the case of TXRF, the detection ( $L_D$ ) and quantification ( $L_Q$ ) limits for the experimental conditions were calculated from the equations (3) and (4) respectively, where  $C_x$  is the analyte concentration,  $N_x$  is the analyte signal intensity and  $N_{BG}$  is the background signal intensity [15,28].

$$L_D = (3C_x/N_x) (\sqrt{2N_{BG}}) \quad (3)$$

$$L_C = (3C_x/N_x) (\sqrt{3N_{BG}}) \quad (4)$$

The TXRF detection and quantification capability of the studied elements can be ordered according to the following sequence: Cu > Zn > Fe > Pb > Mn > Cr. The high limits for Cr can explain the low recovery for CRM because the amount of this analyte was near the  $L_D$  [29].

In general, the  $L_D$  and  $L_Q$  were better for ICP-OES than TXRF, except in the case of Fe.

#### *3.4. ICP-OES and TXRF comparison using real mosses samples*

Results obtained in real moss samples in the first and second sampling campaign are indicated in Table 4 and Table 5 respectively. Additionally, the standard deviation of three independent outcomes is shown. The RSD percent obtained by ICP-OES varied between 2-6 percent (Cr), 1-7 percent (Cu), 2-5 percent (Fe), 1-5 percent (Mn), 2-8 percent (Pb) and 2-4 percent (Zn). In the case of TXRF, the RSD percent varied between 3-10 percent (Cr), 2-10 percent (Cu), 2-8 percent (Fe), 2-9 percent (Mn), 2-10 percent (Pb) and 2-10 percent (Zn). Although, in real samples the RSD percent values of ICP-OES are better than RSD percent values of TXRF, all determinations exhibit a satisfactory precision ( $RSD \leq 10$  percent) by both techniques [30].

Table 6 show the result of statistical test for a 95 percent confidence level in real moss samples obtained by ICP-OES and TXRF. Regarding the values obtained, it is interesting to point out the good general agreement found for Cu, Mn, Pb and Zn by both techniques in all samples. The both techniques do not show significant differences in values for Cu, Mn, Pb and Zn in the two sampling campaigns, in other words the elemental concentrations were comparable using ICP-OES and TXRF. In addition, the results for Cr in the first sampling campaign ( $30.3 \pm 11.4$  mg/kg for ICP-OES and  $18.6 \pm 9.8$  mg/kg for TXRF) and Fe values in the second sampling campaign ( $10806 \pm 2978$  mg/kg for ICP-OES and  $8375 \pm 2349$  mg/kg for TXRF) were significantly different by both techniques. These differences are attributed to an incomplete sample digestion in the TXRF sample preparation. Specifically, in biomonitoring research, it is important to assure the complete decomposition of samples because a substantial amount of elements is present in surface or occluded in alumino-silicate particles that are not soluble in standard procedures of plant sample preparation ( $HNO_3/H_2O_2$  or  $HNO_3/HCl$ ), as it occurs for Cr in IAEA-336 (Lichen) analysed by TXRF that produced a higher systematic error (lower accuracy) [25,31].



The use of HF in the ICP-OES sample preparation seems to be the more realistic in evaluating the elemental atmospheric deposition due to the complete dissolution of the sample which took place, so guaranteeing better accuracy and precision for data respect to those obtained with the procedure without HF in the TXRF sample preparation. The use of HF in the acid solution assured the complete dissolution of plant materials; this is very important for some lithogenic elements such as Cr and Fe [23,32,33].

#### *3.4.1. Simple regression analysis*

The concentrations of Cr, Cu, Fe, Mn, Pb and Zn by TXRF in mosses were compared with those obtained by ICP-OES (Fig. 2). The dotted line is the theoretical regression line with the slope value of 1, the intercept value of 0, correlation coefficient ( $r$ ) value of 1 and determination coefficient ( $R^2$ ) value of 1 [34].

Simple regression analysis was carried out and the results are shown in the Fig. 2. The calculated values for slope of Cr (0.91), Cu (0.95), Fe (1.19) and Pb (1.00) include the theoretical slope value of 1, except for Mn (0.88) and Zn (0.76). The calculated values for intercept of Cu (4.34), Fe (975.16) and Mn (22.08) include the theoretical intercept value of 0, with the exception of Cr (12.56), Pb (-5.52) and Zn (30.55); the above indicates that in the case of Cr, Mn, Pb and Zn there are systematic errors. In the specific case of Cr, it presents systematic error because TXRF results are constantly lower (because there are incomplete sample preparation or background miscalculation) than ICP-OES results [35,36].

The values obtained for  $r$  are higher than 0.92 and lower than 0.98 and indicate an acceptable linear relation between the ICP-OES and TXRF measurements. Regarding  $R^2$ , average is  $0.90 \pm 0.05$  and shows an adequate variability of the dependent variable (ICP-OES concentrations) that is explained by the lineal model [23,36]. Although clearly the  $r$  and  $R^2$  values for Cr and Fe are the lowest, these elements show the highest systematic and random errors in the measurements.

The ANOVA regression lineal results show p-value less than 0.05, indicating equivalency and significant relation between ICP-OES and TXRF. Based on these analyses, it can be concluded

that the results obtained by the two techniques are comparable at the 95 percent confidence level [36].

### 3.5. Comparison of elemental concentrations in MATV mosses with other regions

The mean concentrations of elements in moss samples from MATV were presented in the following order: Fe > Mn > Zn > Pb > Cu > Cr. The use of epiphytic mosses in urban areas as bioindicators of atmospheric pollution has been reported in several parts of the world. Lower concentrations as the ones reported here have been found in the case of Cr, Cu, Fe, Mn, Zn and Pb in Italy, Czech Republic and Norway [37-40]. However, our results are similar in the case of Cu, Mn, Pb and Zn than those measured in urban areas from Campania Region, Italy, Shanghai, China and Turkey [38,41,42]. The polluted areas in Turkey, Serbia and Spain shows Fe, Pb, Zn and Cr concentrations two or three times lower and Cu concentrations eight times higher than this study. The Mn concentration in Spain is similar [43-45]. Many of these studies demonstrated that mosses are the best bioindicator for atmospheric deposition levels at the rate of a whole country and region their use proved to be effective and of a low cost.

*Fabriona ciliaris* and *Leskea angustata* have not been reported in the scientific literature as bioindicators of atmospheric pollution in urban areas, in such a way, this is the first time that heavy metal concentrations in these two species have been reported.

## 4. Conclusions

SRMs analytical results showed an acceptable accuracy. The ICP-OES and TXRF accuracy was analogous to other biological and vegetable samples studies, although in average, the ICP-OES accuracy was better than TXRF.

The SRMs precision was adequate with both analytical techniques. Particularly, the Cr analytical results showed the less precision by both techniques and the Mn and Pb analytical results showed the highest precision by TXRF.

The  $L_D$  and  $L_Q$  were better for ICP-OES than TXRF except in the case of Fe, and the linearity was suitable.

In the case of real moss samples, all determinations showed a good precision.

The statistical results for Cu, Mn, Pb and Zn in the two sampling campaigns indicated a good agreement by both techniques in all the mosses samples. However, the Cr and Fe results in the

first and the second sampling campaign, showed statistical differences between ICP-OES and TXRF. These differences were attributed to an incomplete TXRF digestion samples.

The results of simple regression analysis for Cr, Mn, Pb and Zn, indicate that there were random errors between techniques.

The correlation and determination coefficients ( $r$  and  $R^2$ ) and the ANOVA simple regression analysis indicated equivalency and significant statistical relation between ICP-OES and TXRF results. Although the  $r$  and  $R^2$  values for Cr and Fe are the lowest, these elements showed the highest systematic and random errors in the measurements.

In general, the results demonstrate the acceptable accordance between ICP-OES and TXRF techniques for the same analysed elements present in mosses from MATV in terms of detection/quantification limits, accuracy, precision and statistical analysis. Both multielemental techniques are alternative analytical tools for metal analysis and air pollution biomonitoring in a zone with severe pollution problems.

In this paper, is the first time that *Fabriona ciliaris* and *Leskea angustata* have been used as bioindicators of atmospheric pollution in urban areas.

## References

- [1] Pontevedra-Pombal X, Mighall TM, Nóvoa-Muñoz JC, Peiteado-Varela E, Rodríguez-Racedo J, García-Rodeja E, Martínez-Cortizas A (2012) Five thousand years of atmospheric Ni, Zn, As, and Cd deposition recorded in bogs from NW Iberia: prehistoric and historic anthropogenic contributions. *J Archaeol Sci* 40: 1-14.
- [2] Serbula SM, Miljkovic DD, Kovacevic RM, Ilic AA (2012) Assessment of airborne heavy metal pollution using plant parts and topsoil. *Ecotox Environ Safe* 76:209–214.
- [3] World Health Organization Regional Office for Europe (2007) Health risks of heavy metals from long-range transboundary air pollution. Copenhagen, Denmark.
- [4] Sousa SIV, Pires JCM, Martins EM, Fortes JDN, Alvim-Ferraz MCM, Martins FG (2012) Short-term effects of air pollution on respiratory morbidity at Rio de Janeiro — PART I: Air Pollution Assessment. *Environ Int* 44:18–25.
- [5] Steinnes E, Berg T, Uggerud HT (2011) Three decades of atmospheric metal deposition in Norway as evident from analysis of moss samples. *Sci Total Environ* 412-413:351–358.
- [6] Wannaz ED, Carreras HA, Rodriguez JH, Pignata ML (2012). Use of biomonitors for the identification of heavy metals emission sources. *Ecol Indic* 20:163–169.
- [7] Thöni L, Yurukova L, Bergamini AL, Ilyin I, Matthaei D (2011) Temporal trends and spatial patterns of heavy metal concentrations in mosses in Bulgaria and Switzerland: 1990-2005. *Atmos Environ* 45:1899-1912.
- [8] Ares A, Aboal JR, Carballeira A, Giordano S, Adamo P, Fernández JA (2012) Moss bag biomonitoring: A methodological review. *Sci Total Environ* 432:143–158.

- [9] Zabiegała B, Kot-Wasik A, Urbanowicz M, Namieśnik J (2010) Passive sampling as a tool for obtaining reliable analytical information in environmental quality monitoring. *Anal Bioanal Chem* 396:273–296.
- [10] Harmens H, Norris DA, Steinnes E, Kubin E, Piispanen J, Alber R, Aleksiyenak Y, Blum O, Coskun M, Dam M, De Temmerman L, Fernández JA, Frolova M, Frontasyeva M, González-Miqueo L, Grodzinska K, Jeran Z, Korzekwa S, Krmar M, Kvietkus K, Leblond S, Liiv S, Magnússon SH, Mankovská B, Pesch R, Rühling Å, Santamaria JM, Schröder W, Spiric Z, Suchara I, Thöni L, Urumov V, Yurukova L, Zechmeister HG (2010) Mosses as biomonitors of atmospheric heavy metal deposition: Spatial patterns and temporal trends in Europe. *Environ Pollut* 158:3144-3156.
- [11] Migaszewski ZM, Gałuszka A, Dołęgowska S, Crock JG, Lamothe PJ (2010) Mercury in mosses *Hylocomium splendens* (Hedw.) B.S.G. and *Pleurozium schreberi* (Brid.) Mitt. from Poland and Alaska: Understanding the origin of pollution sources. *Ecotox Environ Safe* 73:1345-1351.
- [12] Gobierno del Estado de México, Secretaría del Medio Ambiente (2007) Aire Limpio: Programa para el Valle de Toluca 2007-2011. Tlalnepantla, México.
- [13] Macedo-Miranda MG, Zarazúa G, Mejía-Zarate E, Ávila-Pérez P, Barrientos-Becerra B, Tejeda S (2009) Simultaneous determination of elemental content in water samples by total reflection X-ray fluorescence and atomic absorption spectrometry. *J Radioanal Nucl Chem* 280-2:431–434.
- [14] Larrea-Marín MT, Pomares-Alfonso MS, Gómez-Juaristi M, Sánchez-Muniz FJ, Ródenas de la Rocha S (2010) Validation of an ICP-OES method for macro and trace element determination in *Laminaria* and *Porphyra* seaweeds from four different countries. *J Food Compos Anal* 23:814–820.
- [15] Tejeda S, Zarazúa G, Ávila-Pérez P, Carapia-Morales L, Martínez T (2010) Total reflection X-ray fluorescence spectrometric determination of elements in water hyacinth from the Lerma River. *Spectrosc. Acta Pt B-Atom Spectr* 65:483–488.
- [16] Gerboles M, Buzic D, Brown RJC, Yardley RE, Hanus-Illnar A, Salfinger M, Vallant B, Adriaenssens E, Claeys N, Roekens E, Sega K, Jurasovic J, Rychlik S, Rabinak E, Tanet G, Passarella R, Pedroni V, Karlsson V, Alleman L, Pfeffer U, Gladtko D, Olschewski A, O’Leary B, O’Dwyer M, Pockeviciute D, Biel-Cwikowska J, Tursic J (2011) Interlaboratory comparison exercise for the determination of As, Cd, Ni and Pb in PM10 in Europe. *Atmos Environ* 45:3488-3499.
- [17] Szoboszlai N, Polgari Z, Mihucz VG, Zaray G (2009) Recent trends in total reflection X-ray fluorescence spectrometry for biological applications. *Anal Chim Acta* 633:1–18.
- [18] Oleszczuk N, Castro JT, da Silva MM, Korn MGA, Welz B, Vale MGR (2007) Method development for the determination of manganese, cobalt and copper in green coffee comparing direct solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometry and inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Talanta* 73:862–869.
- [19] Cataldo F (2012) Multielement analysis of a municipal landfill leachate with total reflection X-ray fluorescence (TXRF). A comparison with ICP-OES analytical results. *J Radioanal Nucl Chem* 293:119–126.
- [20] Montero Alvarez A, Estévez Alvarez JR, Padilla Alvarez R (2007) Heavy metal analysis of rainwaters: A comparison of TXRF and ASV analytical capabilities. *J Radioanal Nucl Chem* 273-2:427–433.
- [21] Cantarelli MA, Camiña JM, Pettenati EM, Marchevsky EJ, Pellerano RG (2011) Trace mineral content of Argentinean raw propolis by neutron activation analysis (NAA): Assessment of geographical provenance by chemometrics. *LWT - Food Sci Technol* 44:256-260.

- [22] Shah AQ, Kazi TG, Arain MB, Jamali MK, Afridi HI, Jalbani N, Kandhro GA, Baig JA, Adilsarfraz R, Aansari R (2009) Comparison of electrothermal and hydride generation atomic absorption spectrometry for the determination of total arsenic in broiler chicken. *Food Chem* 113:1351–1355.
- [23] Baffi C, Bettinelli M, Beone GM, Spezia S (2002) Comparison of different analytical procedures in the determination of trace elements in lichens. *Chemosphere* 48:299–306.
- [24] Olmedo P, Pla A, Hernández AF, López-Guarnido O, Rodrigo L, Gil F (2010) Validation of a method to quantify chromium, cadmium, manganese, nickel and lead in human whole blood, urine, saliva and hair samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Anal Chim Acta* 659:60–67.
- [25] Migaszewski ZM, Lamothe PJ, Crock JG, Gałuszka A, Dolegowska S (2011) The role of sample preparation in interpretation of trace element concentration variability in moss bioindication studies. *Environ Chem Lett* 9:323–329.
- [26] Millour S, Noël L, Kadar A, Chekri R, Vastel C, Guérin T (2011) Simultaneous analysis of 21 elements in foodstuffs by ICP-MS after closed-vessel microwave digestion: Method validation. *J Food Compos Anal* 24:111–120.
- [27] Günther K, von Bohlen A, Paprott G, Kloekenkämper R (1992) Multielement analysis of biological reference materials by total-reflection X-ray fluorescence and inductively coupled plasma mass spectrometry in the semiquant mode. *J Anal Chem* 342:444–448.
- [28] Kloekenkämper R (1997) Total-reflection X-ray fluorescence analysis. Wiley, New York,
- [29] Menezes EA, Carapelli R, Bianchi SR, Souza SNP, Matos WO, Pereira-Filho ER, Nogueira ARA (2010) Evaluation of the mineral profile of textile materials using inductively coupled plasma optical emission spectrometry and chemometrics. *J Hazard Mater* 182:325–330.
- [30] Yafa C, Farmer JG (2006) A comparative study of acid-extractable and total digestion methods for the determination of inorganic elements in peat material by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry. *Anal Chim Acta* 557:296–303.
- [31] Marqués MJ, Salvador A, Morales-Rubio AE, de la Guardia M (2000) Trace element determination in sediments: a comparative study between neutron activation analysis (NAA) and inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS). *Microchem J* 65:177–187.
- [32] Krachlera M, Mohl C, Emons H, Shotyka (2002) W Analytical procedures for the determination of selected trace elements in peat and plant samples by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Spectrochim Acta Pt B-Atom Spectr* 57:1277–1289.
- [33] Kulkarni P, Chellam S, Flanagan JB, Jayanty RKM (2007) Microwave digestion—ICP-MS for elemental analysis in ambient airborne fine particulate matter: Rare earth elements and validation using a filter borne fine particle certified reference material. *Anal Chim Acta* 599:170–176.
- [34] Miller NJ, Miller JC (2002) *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*. Madrid, pp. 278.
- [35]. Antosz FJ, Xiang Y, Diaz AR, Jensen AJ (2012) The use of total reflectance X-ray fluorescence (TXRF) for the determination of metals in the pharmaceutical industry. *J Pharm Biomed Anal* 62:17–22.
- [36] Gutiérrez-Pulido H, de la Vara-Salazar R (2008) *Análisis y diseño de experimentos*, Mc Graw Hill, México.
- [37] Basile A, Sorbo S, Aprile G, Conte B, Castaldo Cobianchi R (2008) Comparison of the heavy metal bioaccumulation capacity of an epiphytic moss and an epiphytic lichen. *Environ Pollut* 151:401–407.

- [38] Spagnuolo V, Terracciano S, Giordano S (2009) Trace element content and molecular biodiversity in the epiphytic moss *Leptodon smithii*: Two independent tracers of human disturbance. *Chemosphere* 74:1158–1164.
- [39] Suchara I, Sucharova J, Hola M, Reimann C, Boyd R, Filzmoser P, Englmaier P (2011) The performance of moss, grass, and 1- and 2-year old spruce needles as bioindicators of contamination: A comparative study at the scale of the Czech Republic. *Sci Tot Environ* 409:2281–2297.
- [40] Berg T, Royset O, Steinnes E, Vadset M (1995) Atmospheric trace element deposition: principal component analysis of ICP-MS data from moss samples. *Environ Pollut* 88:67-77.
- [41] Cao T, Wang M, An L, Yu a Y, Lou Y, Guo S, Zuo B, Liu Y, Wu J, Cao Y, Zhu Z (2009) Air quality for metals and sulfur in Shanghai, China, determined with moss bags. *Environ Pollut* 157:1270–1278.
- [42] Mendila D, Celik F, Tuzena M, Soylakb M (2009) Assessment of trace metal levels in some moss and lichen samples collected from near the motorway in Turkey. *J Hazard Mater* 166:1344–1350.
- [43] Koza B, Cevik U, Akbulut S (2012) Heavy metal analysis around Murgul (Artvin) copper mining area of Turkey using moss and soil. *Ecolog Indicat* 20:17–23.
- [44] Anicic M, Tasic M, Frontasyeva MV, Tomasecic M, Rajsic S, Srelkova LP, Popovic A, Steinnes E (2009) Active biomonitoring with wet and dry moss: a case study in an urban area. *Environ Chem Lett* 7:55-60.
- [45] Fernández JA, Carballeira A (2001) A comparison of indigenous mosses and topsoils for use in monitoring atmospheric heavy metal deposition in Galicia (northwest Spain). *Environ Pollut* 114:431-441.

Table 1 Accuracy of ICP-OES and TXRF between measured and certified values

Element	Accuracy									
	Certified values (mg/kg) <sup>a</sup>	Certified values (mg/kg) <sup>b</sup>	ICP-OES				TXRF			
			Measured values (mg/kg) <sup>a</sup>	Recovery (%) <sup>a</sup>	Measured values (mg/kg) <sup>b</sup>	Recovery (%) <sup>b</sup>	Measured values (mg/kg) <sup>a</sup>	Recovery (%) <sup>a</sup>	Measured values (mg/kg) <sup>b</sup>	Recovery (%) <sup>b</sup>
Cr	1.06±0.17	4.5±0.5	0.99±0.15	94	4.12±0.56	92	0.86±0.15	81	4.12±0.34	92
Cu	3.6±0.5	11±1	3.9±0.4	108	11.36±0.23	103	3.66±0.20	102	10.39±0.4	94
Fe	430±50	690±25	424±32	99	712.5±24	103	421±16.1	98	625±27.8	91
Mn	63±7.0	238±7	63.4±5.5	101	245.6±8.2	103	62.40±2.3	99	237±2.9	100
Pb	4.9±0.6	6.3±0.3	4.70±0.3	96	6.45±0.50	102	4.76±0.04	97	6.23±0.2	99
Zn	30.4±3.4	62±6	31.7±2.0	104	64.31±1.34	104	36.21±1.7	119	57.86±1.5	93

Values are mean±SD for 6 replicates

<sup>a</sup> Certified Reference Materials used: IAEA 336 (Lichen)

<sup>b</sup> Certified Reference Materials used: SRM-1573 (Tomato Leaves)

Table 2 Comparison of precision between ICP-OES and TXRF used CRMs

Element	Precision					
	ICP-OES		TXRF		F for variance of two samples test <sup>c</sup>	
	RSD (%) <sup>a</sup>	RSD (%) <sup>b</sup>	RSD (%) <sup>a</sup>	RSD (%) <sup>b</sup>	Calculated F <sup>a</sup>	Calculated F <sup>b</sup>
Cr	15	14	17	8	1.00	0.37
Cu	10	2	6	4	4.00	3.02
Fe	8	3	4	4	3.95	1.34
Mn	9	3	4	1	5.72*	8.00*
Pb	6	8	1	3	56.25*	6.25*
Zn	6	2	5	3	1.38	1.25

Values for 6 replicates

<sup>a</sup> Certified Reference Materials used: IAEA 336 (Lichen)<sup>b</sup> Certified Reference Materials used: SRM-1573 (Tomato Leaves)<sup>c</sup> Critic Value F: 5.05

\*Significant differences

Table 3 Linearity, limits of detection ( $L_D$ ) and limits of quantification ( $L_Q$ )

Element	ICP-OES			TXRF	
	r	$L_D^a$	$L_Q^a$	$L_D^a$	$L_Q^a$
Cr	0.999	0.01	0.02	4.50	5.00
Cu	0.999	0.04	0.10	1.30	1.60
Fe	0.999	2.60	7.20	1.40	1.70
Mn	0.999	0.01	0.02	1.60	2.00
Pb	0.999	0.50	1.50	1.60	1.70
Zn	0.999	0.05	0.15	1.30	1.60

<sup>a</sup>Values in mg/kg

Table 4 Determination of metal content in mosses from the MATV in the first sampling campaign by ICP-OES and TXRF

Site	Specie	Cr		Cu		Fe		Mn		Pb		Zn	
		(mg/kg)		(mg/kg)		(mg/kg)		(mg/kg)		(mg/kg)		(mg/kg)	
		ICP-OES	TXRF	ICP-OES	TXRF	ICP-OES	TXRF	ICP-OES	TXRF	ICP-OES	TXRF	ICP-OES	TXRF
Negrete	<i>L. angustata</i>	32.50±1.45	18.57±1.19	19.90±1.10	15.16±0.47	12 633±480	8 485±321	270±13	245±10	37.60±1.70	40.04±1.16	95.30±3.10	83.18±3.5
Alameda	<i>F. ciliaris</i>	49.35±2.50	32.50±3.10	43.15±1.90	32.12±2.26	15 235±720	9 332±696	202±9	172±9	125±3	112±5	199±8	145±12
Reforma	<i>F. ciliaris</i>	41.10±1.20	27.21±0.79	45.15±2.10	40.2±0.86	9 426±285	6 746±191	126±3	119±2	111±2.8	107±2.4	210±6	179±4
Hípico	<i>F. ciliaris</i>	36.30±0.90	22.32±1.15	30.70±0.40	26.17±1.0	8 520±190	5 616±310	155±2	132±9	28.70±0.70	32.59±2.26	167±6	151±3
Pilita	<i>F. ciliaris</i>	28.00±0.80	16.93±0.75	25.20±0.70	20.68±0.81	9 965±170	6 432±214	181±2	161±8	26.25±1.20	25.31±1.59	147±3	136±4
Santín	<i>F. ciliaris</i>	27.50±1.40	21.47±1.46	23.95±1.10	27.36±1.38	12 055±495	9 562±232	278±11	292±10	14.90±0.60	20.36±1.51	176±7	220±16
Tollocan	<i>F. ciliaris</i>	41.56±1.10	28.49±1.19	61.96±1.20	66.78±2.58	12 320±270	10 708±344	189±3	214±12	54.15±1.80	70.3±3.81	317±6	406±19
Lomas Altas	<i>L. angustata</i>	15.10±0.80	7.14±0.69	17.20±0.65	16.96±1.28	3 840±120	3 008±142	120±6	110±7	9.70±0.70	13.25±0.20	103±4	100±6
San Miguel	<i>L. angustata</i>	30.16±1.15	20.14±1.64	25.80±0.85	27.71±2.26	10 590±390	9 812±461	187±6	236±16	24.30±0.95	35.63±2.52	125±5	149±10
San Antonio	<i>L. angustata</i>	15.90±0.55	9.50±0.42	16.60±0.60	18.49±1.16	5 760±220	5 118±301	421±13	439±9	14.50±0.60	22.28±1.1	80.10±3.50	91.33±5.86
Cacalomaacan	<i>L. angustata</i>	16.15±0.60	<5	12.60±0.90	11.01±0.89	6 250±150	4 420±237	167±3	165±5	9.80±0.40	9.89±0.68	69.20±1.50	71.52±3.14

Data are reported as the mean ± S.D of n=3



Table 5 Determination of metal content in mosses from the MATV in the second sampling campaign by ICP-OES and TXRF

Site	Specie	Cr (mg/kg)		Cu (mg/kg)		Fe (mg/kg)		Mn (mg/kg)		Pb (mg/kg)		Zn (mg/kg)	
		ICP-OES	TXRF	ICP-OES	TXRF	ICP-OES	TXRF	ICP-OES	TXRF	ICP-OES	TXRF	ICP-OES	TXRF
		Negrete	<i>L. angustata</i>	32.50±1.80	17.42±1.19	32.60±0.90	18.61±1.15	12 590±450	8 550±530	317±13	282±19	31.90±1.00	39.84±1.98
Alameda	<i>F. ciliaris</i>	45.20±2.10	38.59±2.90	38.85±1.15	37.74±2.24	13 925±435	11 339±417	215±8	252±8	74.40±1.90	84.72±3.37	177±5	198±10
Reforma	<i>F. ciliaris</i>	46.85±1.60	45.20±3.88	46.60±1.40	43.91±2.56	10 920±450	8 807±483	128±2	152±13	85.50±3.40	101±4	171±4	186±11
Hipico	<i>F. ciliaris</i>	29.20±1.10	22.65±1.72	26.05±0.70	22.90±1.97	9 422±250	6 632±560	195±6	192±12	23.35±1.30	27.78±2.25	161±4	159±6
Pilita	<i>F. ciliaris</i>	32.40±1.20	26.05±2.31	29.90±0.80	27.33±2.73	11 300±500	8 444±475	231±5	232±13	23.10±1.10	30.61±1.46	142±3	146±8
Santín	<i>L. angustata</i>	24.40±1.10	19.88±1.25	28.62±0.75	27.78±2.14	10 375±300	8 124±586	263±6	268±19	16.80±1.40	22.46±1.70	223±5	267±20
Tollocan	<i>F. ciliaris</i>	46.62±1.82	33.49±2.36	65.60±2.20	59.68±2.57	14 103±320	10 067±673	294±11	276±17	60.05±2.35	73.34±2.12	325±13	372±17
Lomas Altas	<i>F. ciliaris</i>	20.75±1.22	14±0.99	22.30±1.10	21.19±1.18	5 455±152	4 036±280	123±3	121±9	13.20±0.70	14.10±1.34	101±3	99±4
San Miguel	<i>F. ciliaris</i>	44.70±1.65	27.14±1.26	38.50±1.15	33.38±1.16	14 826±532	12 288±443	294±10	345±22	40.70±1.38	50.15±0.68	171±3	205±4
San Antonio	<i>L. angustata</i>	21.70±1.20	11.31±0.67	20.60±0.60	21.97±2.15	8 910±175	7 879±598	455±12	497±40	19.50±0.80	26.03±1.51	96.15±3.20	105±11
Cacalomacán	<i>L. angustata</i>	15.60±0.65	<5	22.14±1.40	14.57±1.28	7 042±120	5 959±163	188±5	215±4	9.20±0.50	13.01±1.09	67.90±2.40	84.0±7.00

Data are reported as the mean ± S.D of n=3

Table 6 Comparison between ICP-OES and TRFX by one factor experimental design

Element	p-value	
	First sampling	Second sampling
Cr	0.0172*	0.0843
Cu	0.8696	0.3410
Fe	0.0658	0.0462*
Mn	0.8182	0.8182
Pb	0.6695	0.5327
Zn	0.9215	0.7676

Concentrations used of real moss samples

\*Significant difference for a 95% confidence level

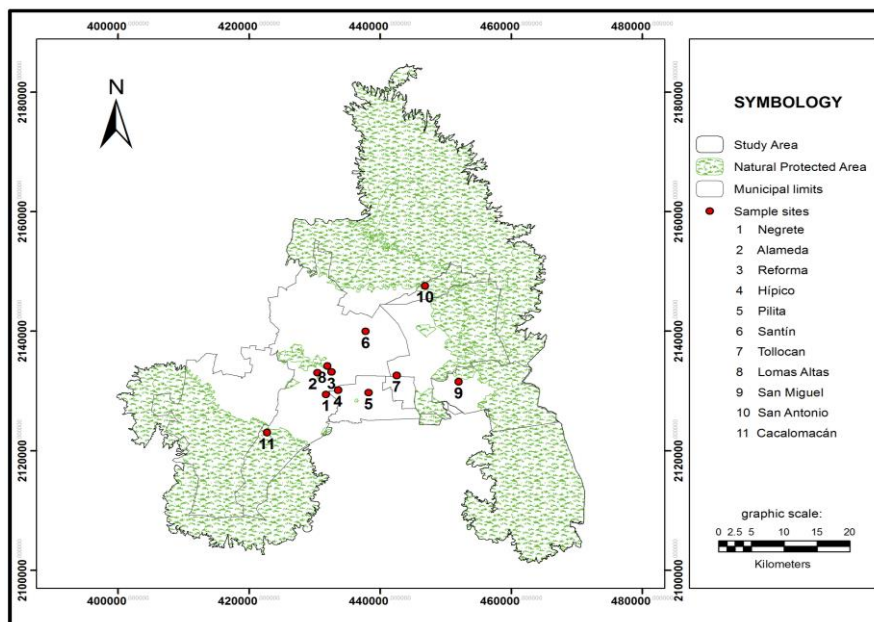


Fig.1. Moss sampling sites in the Metropolitan Area of the Toluca Valley



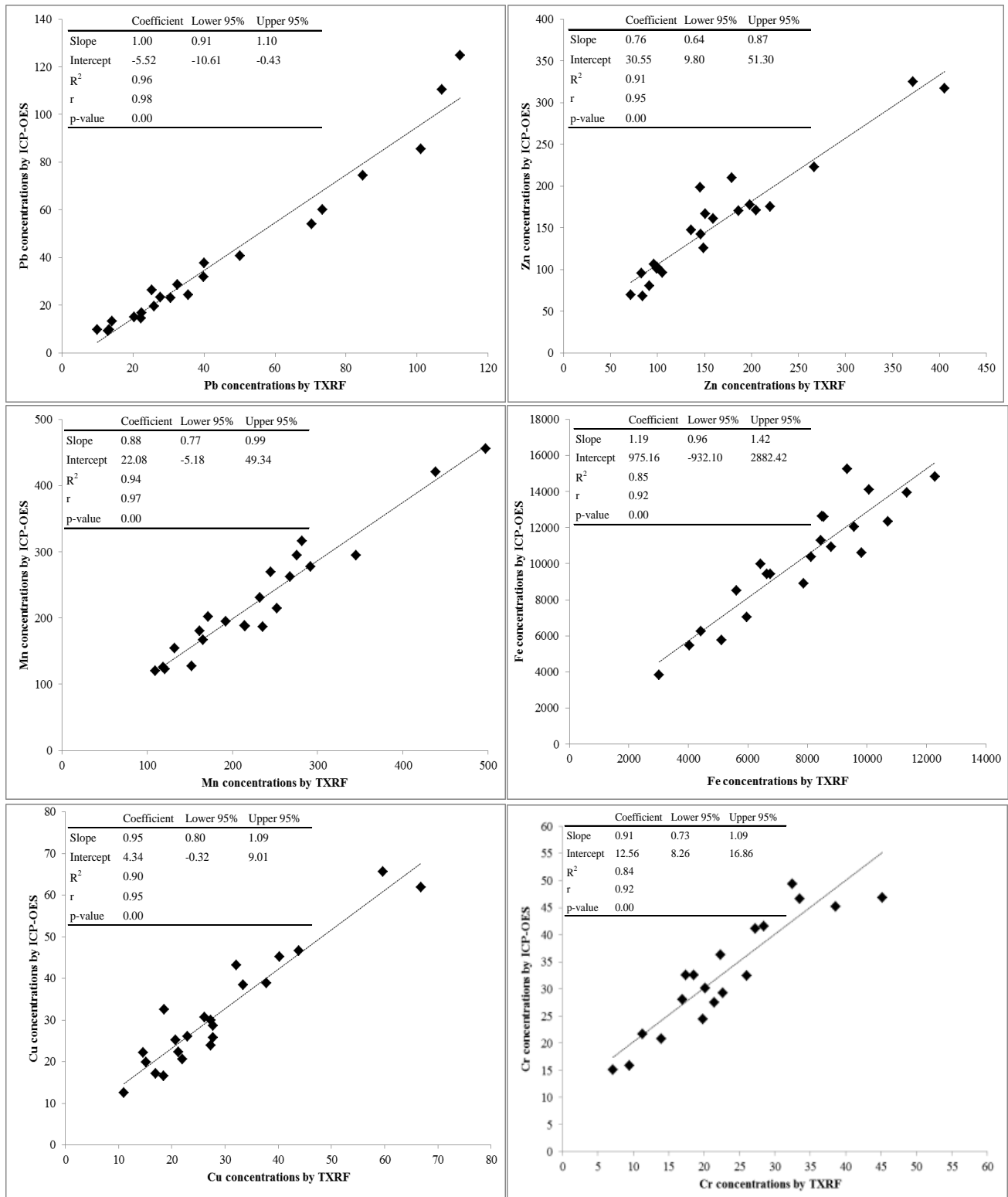


Fig 2. Intercomparison of ICP-OES and TXRF for Pb, Zn, Mn, Fe, Cu and Cr measurement in mosses.

## 6.2. Control de Calidad de los Procedimientos Analíticos

Para el control de calidad de los procedimientos analíticos, los parámetros de desempeño evaluados fueron la exactitud, la precisión, la linealidad y los límites de detección y cuantificación, y se emplearon dos materiales de referencia certificados (MRC) de matriz biológica: IAEA-336 (Lichen)<sup>a</sup> y SRM-1573 (Tomato leaves)<sup>b</sup>. Ambos MRC fueron sometidos al mismo tratamiento que se les dio a las muestras de musgos reales, según la técnica analítica empleada.

### 6.2.1. Exactitud

La exactitud se evaluó comparando el valor medido de cada técnica analítica involucrada y el valor certificado de los MRC a través de un estudio de recobro. El recobro (R%) es el porcentaje de la razón y el valor certificado del MRC. En la **Tabla 6.1** y en la **Tabla 6.2** se observa la media de 6 réplicas y su respectiva desviación estándar como valor medido en las técnicas analítica nucleares y en las convencionales, respectivamente; así como su correspondiente R%.

Tabla 6.1. Exactitud en Técnicas Analíticas Nucleares								
Elemento		Cr	Cu	Fe	Hg	Mn	Pb	Zn
Valor certificado <sup>a</sup>		1.06±0.17	3.6±0.5	430±50	0.2±0.04	63±7.0	4.9±0.6	30.4±3.4
Valor certificado <sup>b</sup>		4.5±0.5	11±1	690±25	0.1±nd	238±7	6.3±0.3	62±6
AAN	Valor medido <sup>a</sup>	1.07±0.14	nd	428±9	0.23±0.03	nd	nd	30.2±2
	R% <sup>a</sup>	101	-	100	115	-	-	99
	Valor medido <sup>b</sup>	4.34±0.53	nd	692±31	0.097±0.01	nd	nd	61.2±3
	R% <sup>b</sup>	97	-	100	97	-	-	99
TXRF	Valor medido <sup>a</sup>	0.86±0.15	3.66±0.20	421±16.1	nd	62.40±2.3	4.76±0.04	36.21±1.7
	R% <sup>a</sup>	81	102	98	-	99	97	119
	Valor medido <sup>b</sup>	4.12±0.34	10.39±0.4	625±27.8	nd	237±2.9	6.23±0.2	57.86±1.5
	R% <sup>b</sup>	92	94	91	-	100	99	93

Los valores certificados y medidos están reportados en mg/kg  
<sup>a</sup> IAEA-336 (Lichen), <sup>b</sup> SRM-1573 (Tomato leaves)  
 nd No determinado

La exactitud para AAN es satisfactoria y en general se encontró dentro del intervalo de aceptación (90-110%) como lo menciona Baffi *et al.* en el 2002 y Olmedo *et al.* en el 2010, los valores de R% están entre 97-101% para ambos MRC, exceptuando al Hg cuyo valor es del 115% para el IAEA-336 (Lichen); dicho valor no representa errores significativos, ya que la concentración de Hg es muy baja y como consecuencia se espera que el valor medido se aleje más del valor real o certificado. Por ejemplo, Lan Lee *et al.*, 2005 en su estudio de biomonitoreo atmosférico con musgos registró recobros que van desde 86% hasta 115%.

Los R% obtenidos con TXRF se encuentran entre 91-102% en ambos MRC, lo cual indica que la exactitud es aceptable. Sin embargo, el Cr y el Zn del IAEA-336 (Lichen) tienen R% de 81% y 119%, respectivamente, esto indica la presencia de errores sistemáticos, aunque en estudios similares, es decir con muestras de vegetación se observan R% de 91±13% como aceptables [Migaszewski *et al.*, 2011]. El R% del Cr se atribuyen a una digestión incompleta, es decir la preparación de la muestra en este caso no fue la óptima.

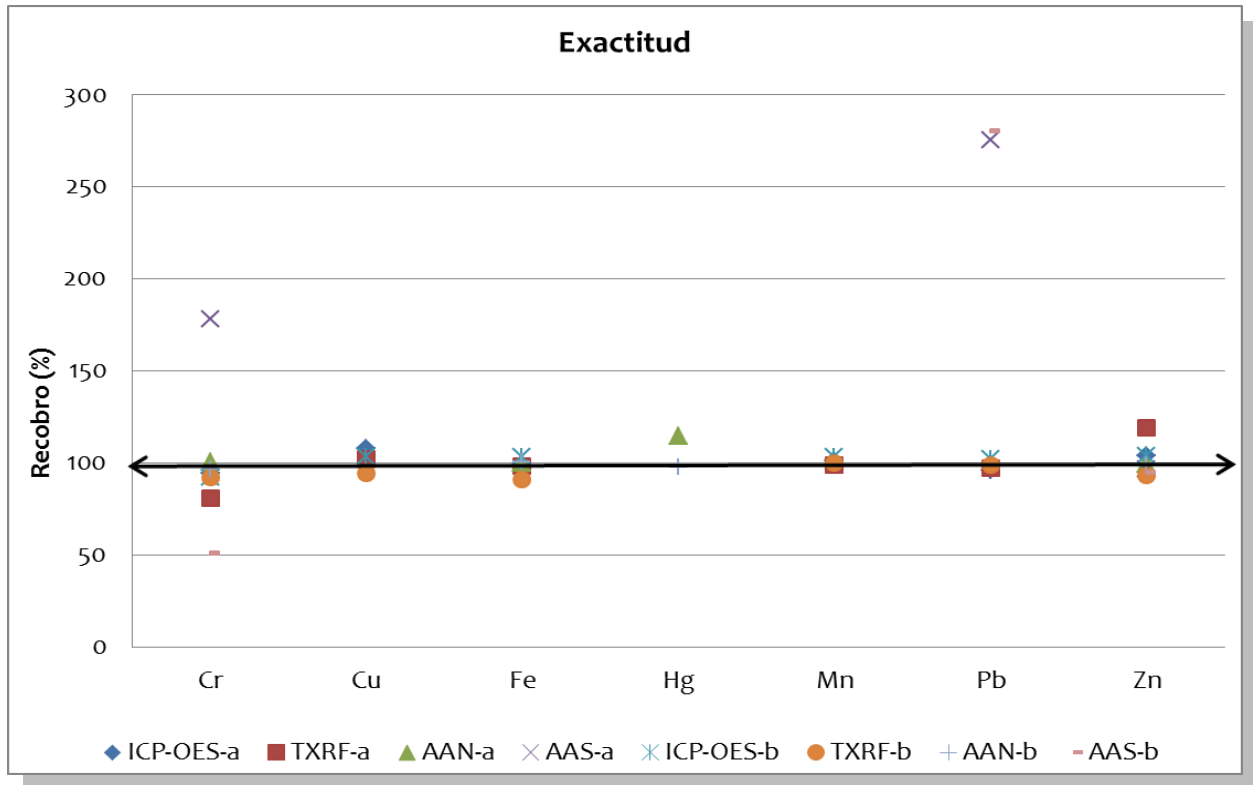
En general, las técnicas analítica nucleares mostraron excelente concordancia entre los valores medidos y los valores certificados, el R% promedio fue 101±6% en el caso de AAN y 97±9% para TXRF.

**Tabla 6.2. Exactitud en Técnicas Analíticas Convencionales**

Elemento		Cr	Cu	Fe	Hg	Mn	Pb	Zn
Valor certificado <sup>a</sup>		1.06±0.17	3.6±0.5	430±50	0.2±0.04	63±7.0	4.9±0.6	30.4±3.4
Valor certificado <sup>b</sup>		4.5±0.5	11±1	690±25	0.1±nd	238±7	6.3±0.3	62±6
ICP-OES	Valor medido <sup>a</sup>	0.99±0.15	3.9±0.4	424±32	nd	63.4±5.5	4.70±0.3	31.7±2.0
	R% <sup>a</sup>	94	108	99	-	101	96	104
	Valor medido <sup>b</sup>	4.12±0.56	11.36±0.23	712.5±24	nd	245.6±8.2	6.45±0.50	64.31±1.34
	R% <sup>b</sup>	92	103	103	-	103	102	104
AAS	Valor medido <sup>a</sup>	1.89±0.71	nd	nd	nd	nd	13.5±2.02	29.37±2.55
	R% <sup>a</sup>	178	-	-	-	-	275	97
	Valor medido <sup>b</sup>	2.29±0.03	nd	nd	nd	nd	17.67±2.01	58.9±2.60
	R% <sup>b</sup>	51	-	-	-	-	280	95

Los valores certificados y medidos están reportados en mg/kg; nd No determinado  
<sup>a</sup> IAEA-336 (Lichen), <sup>b</sup> SRM-1573 (Tomato leaves)

El estudio de recobro para ICP-OES arrojó valores para ambos MRC entre 92-108%, los cuales caen en el intervalo de aceptación, esto indica que el procedimiento analítico presenta una buena exactitud ( $101 \pm 5\%$ ). Sin embargo, es importante resaltar que los R% más bajos corresponden al Cr.



**Figura 6.1.** Exactitud en los MRC: IAEA-336 (Lichen)<sup>a</sup> y SRM-1573 (Tomato leaves)<sup>b</sup>

En el caso de AAS se observaron errores sistemáticos tales como, contaminación de la muestra durante el tratamiento de la muestra en el caso del Pb y una digestión incompleta en el caso del Cr, afectaron la exactitud significativamente y posiblemente atribuidos al excesivo manejo de la muestra. No obstante, la exactitud del Zn para ambos MRC (95-97%) se encuentra dentro del intervalo de aceptación.

En la **Fig. 6.1** se observan de manera gráfica el estudio de recobro y se compara con el recobro teórico (100%), el cual se obtendría con la ausencia tanto de errores sistemáticos como aleatorios, esto es imposible ya que a cualquier medición se le atribuye un error inherente a la misma.

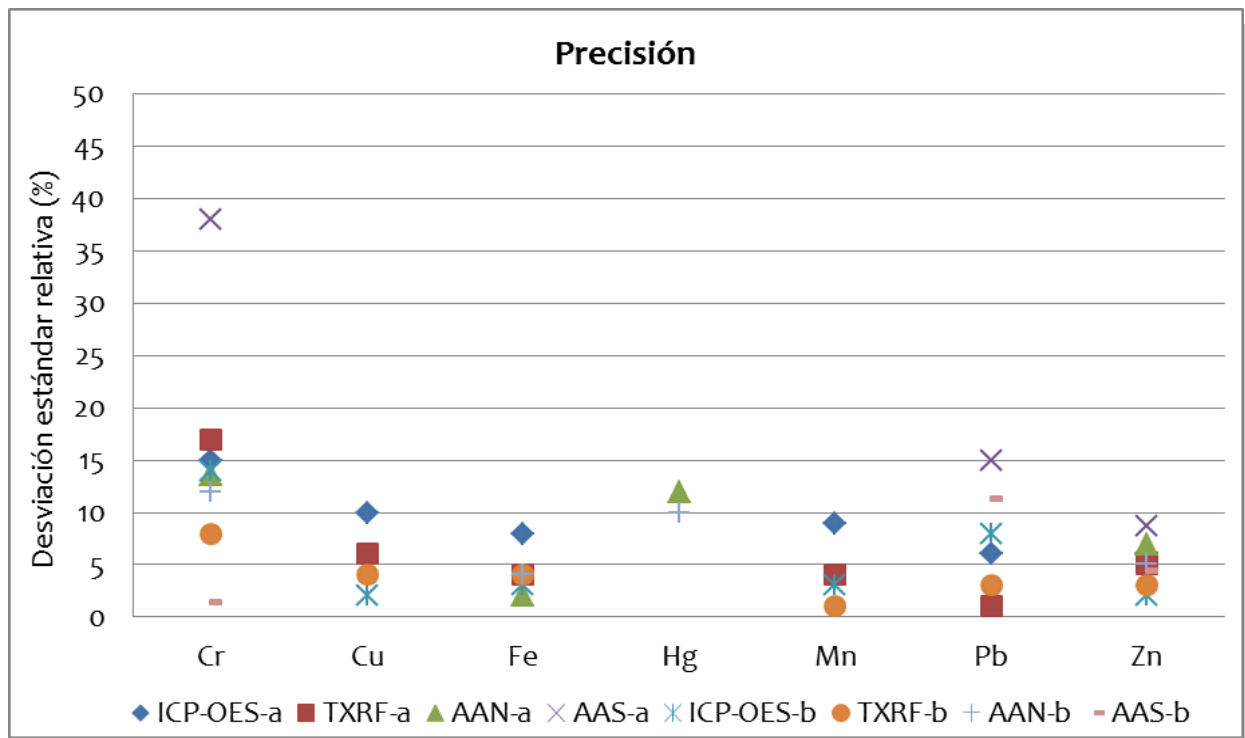
### 6.2.2. Precisión

La precisión se evaluó en términos de la desviación estándar relativa (DER%), resultado de dividir la desviación estándar entre el promedio de las réplicas por 100%, ya que indica una interpretación porcentual del grado de variabilidad de las mediciones. En la **Tabla 6.3** y en la **Fig. 6.2** se aprecian las DER% de 6 mediciones independientes de la concentración de cada elemento en ambos MRC usando técnicas analíticas nucleares y convencionales.

**Tabla 6.3. Precisión de las concentraciones medidas en los MRC**

Elemento	AAN		TXRF		ICP-OES		AAS	
	DER% <sup>a</sup>	DER% <sup>b</sup>	DER% <sup>a</sup>	DER% <sup>b</sup>	DER% <sup>a</sup>	DER% <sup>b</sup>	DER% <sup>a</sup>	DER% <sup>b</sup>
Cr	14	12	17	8	15	14	38	1
Cu	-	-	6	4	10	2	-	-
Fe	2	4	4	4	8	3	-	-
Hg	12	10	-	-	-	-	-	-
Mn	-	-	4	1	9	3	-	-
Pb	-	-	1	3	6	8	15	11
Zn	7	5	5	3	6	2	9	4

<sup>a</sup> IAEA-336 (Lichen), <sup>b</sup> SRM-1573 (Tomato leaves)



**Figura 6.2.** Precisión en los MRC: IAEA-336 (Lichen)<sup>a</sup> y SRM-1573 (Tomato leaves)<sup>b</sup>

En general, la precisión es satisfactoria ( $DER\% \leq 17\%$ ) tanto en las mediciones realizadas con técnicas analítica nucleares como con las convencionales, esto se puede afirmar debido a que las mediciones poseen una  $DER\%$  menor a 20% como lo indica Migaszewski *et al.* en 2011, es decir, los errores aleatorios no fueron significativos, excepto para el caso del Cr cuantificado por AAS en el AEA-336 (Lichen). También, es importante enfatizar que la mayor variabilidad fue para las mediciones de Cr en todos los casos. Autores como Spagnuolo *et al.* 2009 en el control de calidad para la cuantificación de elementos traza en musgo epifito reportaron  $DER\%$  hasta de 23%.

### 6.2.3. Linealidad

La linealidad de los métodos se pudo observar a través del método de cuantificación empleado. Para cuantificar el contenido elemental por **AAN** se empleó el método del comparador o método de patrón interno, como se mencionó anteriormente, con éste todos los parámetros nucleares y de irradiación son análogos para la muestra y el MRC, dando lugar a que el cociente de las actividades de la muestra y del MRC sea igual al cociente del peso de la muestra y del MRC o comparador, por tanto existe una relación lineal y se puede decir que el método es lineal [Greenberg *et al.*, 2011].

Para **TXRF** el método de cuantificación fue el de estandarización interna o de sensibilidades teóricas por estándar interno, en éste se agregó una alícuota de una solución de Ge como estándar interno en todas las muestras, así como en los MRC, se eligió dicho estándar debido a que su señal es fácilmente medible y no interfiere con la respuesta de los analitos de interés. El cociente de la respuesta del analito y del estándar interno se calculó, de esta forma al variar algún parámetro que afecte a las respuestas medidas, dichas respuestas (del analito y estándar interno) se deben afectar por igual. Por tanto, el cociente de respuestas (del analito y del estándar interno) depende solamente de la concentración de analito. Es decir, la relación o cociente de respuestas analito/estándar interno como función de la concentración del analito es lineal, esto asegura la linealidad del método [Günther *et al.*, 1992; Klockenkämper, 1997].

Con respecto a las técnicas analíticas convencionales (**AAS** y **ICP-OES**) el método de cuantificación empleado en ambas realizando curvas de calibración. Para AAS se realizaron 5 réplicas de 5 concentraciones distintas por cada analito, corroborándose la linealidad del

método con un análisis de regresión lineal de la absorbancia en función de la concentración, utilizando como criterio de calidad el coeficiente de determinación ( $R^2$ ), reportado en la **Tabla 6.4** [Miller Y Miller, 2002].

<b>Tabla 6.4. Intervalo lineal de concentraciones y análisis de regresión lineal de las curvas de calibración para AAS</b>				
<b>Elemento</b>	<b>Intervalo de concentraciones de las soluciones patrón (mg/L)</b>	<b>Análisis estadístico</b>		
		<b>Pendiente</b>	<b>Ordenada al origen</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
Cr	0.15, 0.3, 0.6, 0.9 y 1.2	0.0527	0.0004	0.999
Pb	0.6, 1.0, 1.4, 1.8 y 2.0	0.0228	0.0011	0.998
Zn	0.1, 0.2, 0.4, 0.8 y 1.0	0.2138	0.0044	0.999

Para ICP-OES se eligieron los intervalos de concentración apropiados para realizar las curvas de calibración con 5 puntos y 5 réplicas, utilizando soluciones patrón elemental certificadas, es decir de concentración definida y alta pureza en 10% de ácido nítrico y 10% de ácido clorhídrico. La linealidad de las curvas de calibración se corroboró realizando el análisis de regresión lineal de las intensidades de emisiones en función de la concentración, el parámetro de respuesta fueron los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) como se muestra en la **Tabla 6.5** [Meier y Zünd, 2000].

<b>Tabla 6.5. Intervalo lineal de concentraciones y análisis de regresión lineal de las curvas de calibración para ICP-OES</b>								
<b>Elemento</b>	<b>Intervalo de concentraciones de las soluciones patrón multielemental (mg/Kg)</b>					<b>Análisis estadístico</b>		
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>Pendiente</b>	<b>Ordenada al origen</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
Cr	0	0.25	0.5	1	1.5	26824	220	0.999
Cu	0	0.25	0.5	1	1.5	107750	8784	0.999
Fe	0	50	100	200	300	1005	1164	0.999
Mn	0	1	2	4	6	26506	-112	0.999
Pb	0	0.25	0.5	1	1.5	2570	-29	0.999
Zn	0	1	2	4	6	10904	853	0.999

#### 6.2.4. Límites de Detección ( $L_D$ ) y Cuantificación ( $L_C$ )

En la **Tabla 6.6** se reportan los  $L_D$  y  $L_C$  de las técnicas analíticas nucleares y convencionales involucradas en el presente estudio.

El cálculo del  $L_D$  y  $L_C$  para el **AAN** fue a través del programa “Evalúa y Límites” que se fundamenta en el método Currie, con base en las expresiones matemáticas **6.1** y **6.2**, donde  $\mu_\beta = \Delta't - F\Delta'p$ ,  $F = \frac{\Delta t_v}{\Delta p}$ ,  $\Delta t_v$  es el área del fondo del comparador,  $\Delta p$  es el área neta del comparador,  $\Delta't$  es el área del fondo de la muestra y  $\Delta'p$  es el área neta de la muestra; y sólo en el caso de que los fotopicos del espectro gamma correspondiente a la muestra sean muy pequeños o bien no aparezcan dicho programa realiza la determinación del  $L_D$  [Greenberg et al., 2011; Mejía, 2013].

En esta técnica los límites no se determinan de forma global para la correspondiente metodología, como sucede en la mayoría de las técnicas, sino se dan por cada medición. Razón por la cual en esta sección sólo se reportan los típicos  $L_D$  para una matriz biológica (planta) según Greenberg et al., 2011. Mientras, que es en las mediciones de las muestras de musgo donde se presentó dicho escenario, se indican los  $L_D$ , tal y como se observa más adelante.

$$L_D = 2.71 + 4.65 \sqrt{\mu_\beta} \dots\dots\dots (6.1)$$

$$L_C = 50 \left[ 1 + \left( 1 + \frac{\mu_\beta}{12.5} \right)^{0.5} \right] \dots\dots\dots (6.2)$$

Los  $L_D$  y  $L_C$  en el caso de **TXRF** se calcularon con las ecuaciones **6.3** y **6.4**, respectivamente, donde  $C_x$  es la concentración del analito de interés,  $N_x$  es la intensidad de la señal del analito y  $N_{BG}$  es la intensidad de la señal del fondo [Klockenkämper, 1997, Tejeda et al. 2010].

$$L_D = (3C_x/N_x)(\sqrt{2N_{BG}}) \dots\dots\dots (6.3)$$

$$L_C = (3C_x/N_x)(\sqrt{3N_{BG}}) \dots\dots\dots (6.4)$$



La capacidad de detección y cuantificación de los analitos analizados por TXRF tiene la siguiente secuencia: Cu > Zn > Fe > Pb > Mn > Cr.

La determinación de los  $L_D$  y  $L_C$  en **AAS** fue a través de la ecuación 6.5 y 6.6, donde  $S_{x/y}$  es la desviación estándar y  $b_1$  la pendiente de la regresión lineal de la curva de calibración, propuestas en los métodos  $L_D$  y  $L_C$  con base en la curva de calibración y la desviación estándar de regresión lineal de la Guía de Validación de Métodos Analíticos del Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos [GVMA, 2002].

$$L_D = \frac{3.3 S_{x/y}}{b_1} \dots\dots\dots (6.5)$$

$$L_C = \frac{10 S_{x/y}}{b_1} \dots\dots\dots (6.6)$$

Los  $L_D$  y  $L_C$  de AAS tienen el orden decreciente presentado a continuación: Zn > Cr > Pb.

Los  $L_D$  y  $L_C$  para **ICP-OES** fueron calculados con la ecuación 6.7 y ecuación 6.8, donde  $\bar{x}_b$  es la media de la señal de respuesta de 10 blancos y  $S_b$  su desviación estándar. Las concentraciones correspondientes a dichas señales se obtuvieron a través de la curva de calibración, como propone Larrea-Marín et al., 2010.

$$L_D = \bar{x}_b + 3S_b \dots\dots\dots (6.7)$$

$$L_C = \bar{x}_b + 10S_b \dots\dots\dots (6.8)$$

La capacidad de detección y cuantificación de ICP-OES de los elementos de interés posee la siguiente secuencia: Cr > Mn > Cu > Zn > Pb > Fe.

**Tabla 6.6. Límites de Detección ( $L_D$ ) y Cuantificación ( $L_C$ )**

Elemento	AAN	TXRF		AAS		ICP-OES	
	$L_D$	$L_D$	$L_C$	$L_D$	$L_C$	$L_D$	$L_C$
Cr	1	4.50	5.00	0.03	0.10	0.01	0.02
Cu	nr	1.30	1.60	nd	nd	0.04	0.10
Fe	8	1.40	1.70	nd	nd	2.60	7.20
Hg	0.05	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Mn	nr	1.60	2.00	nd	nd	0.01	0.02
Pb	nr	1.60	1.70	0.10	0.50	0.50	1.50
Zn	0.4	1.30	1.60	0.03	0.09	0.05	0.15

Los resultados están reportados en mg/Kg  
 nd No determinado  
 nr No reportado

### 6.3. Resultados del Contenido Metálico en Muestras de Musgos de la ZMVT

Se realizó el análisis químico elemental (Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Pb y Zn) de las muestras de musgo colectadas en los 16 sitios la ZMVT durante dos campañas de muestreo, tal y como se describió anteriormente. Los resultados analíticos obtenidos se sometieron a una análisis estadístico inferencial con la finalidad de conocer si existe o no diferencia entre las mediciones con las técnicas analítica nucleares y convencionales.

#### 6.3.1. Resultados analíticos obtenidos por AAN

En la **Tabla 6.7** y **Tabla 6.8** se observan los resultados del contenido metálico en musgo de la ZMVT colectados en el primer y segundo muestreo, respectivamente, y analizados por la técnica nuclear de AAN. Los resultados analíticos son reportados como la media  $\pm$  K, donde K es la incertidumbre de la medición con un nivel de confianza del 93%.

La incertidumbre es el intervalo de los valores posibles de una medida, es acumulativa e incluye tanto errores sistemáticos (instrumentales, método, etc.) como aleatorios (pesado, falta de habilidad del analista, etc.), siendo estos últimos la principal fuente de la incertidumbre de una medición.

En el AAN a través del programa “Evalúa y Límites”, introduciendo los parámetros del análisis de la muestra y su patrón, es posible conocer la incertidumbre (K) de la medición con un nivel de significancia de 7%.

Las incertidumbres de las mediciones por AAN están entre 0.45 a 3.24 para el Cr, es decir una incertidumbre relativa con respecto a la medición entre 7% y 18.5%. En el caso del Hg las  $K > 0.21$ , lo cual equivale a  $\pm 60\%$  del valor central. Dichas incertidumbres son aceptables considerando que son la suma de dos tipos de error y el nivel (traza) de cuantificación.

**Tabla 6.7. Resultados del contenido metálico en musgo recolectado durante la época seca-fría de la ZMVT por AAN (mg/Kg)**

Sitios	Especie	Cr	Hg
Negrete	<i>L. angustata</i>	40.70±2.68	0.21±0.06
Alameda	<i>F. ciliaris</i>	51.09±3.37	0.27±0.07
Reforma	<i>F. ciliaris</i>	39.54±3.14	0.36±0.09
Hipico	<i>F. ciliaris</i>	43.33±2.82	0.28±0.07
Pilita	<i>F. ciliaris</i>	28.26±1.78	0.44±0.08
Santin	<i>F. ciliaris</i>	28.35±1.77	0.27±0.09
Tollocan	<i>F. ciliaris</i>	43.97±3.50	0.32±0.08
Lomas Altas	<i>L. angustata</i>	13.38±0.82	0.13±0.03
Acazulco	nr	-	-
Pedregal	nr	-	-
San Miguel	<i>L. angustata</i>	29.49±1.82	$L_D=0.28$
Ameyalco	nr	-	-
San Antonio	<i>L. angustata</i>	16.34±1.31	0.36±0.08
San Diego	nr	-	-
Cacalomacán	<i>L. angustata</i>	17.02±1.12	0.21±0.06
Ciervita	<i>S. subpinnatum</i>	11.31±0.73	0.25±0.05

Los resultados son reportados como la media  $\pm K$ ; K = Incertidumbre, con un nivel de confianza del 93%.  
nr No recolectado

**Tabla 6.8. Resultados del contenido metálico en musgo recolectado durante la época de lluvias de la ZMVT por AAN (mg/Kg)**

Sitios	Especie	Cr	Hg
Negrete	<i>L. angustata</i>	32.47±2.05	0.22±0.06
Alameda	<i>F. ciliaris</i>	29.28±1.55	0.34±0.08
Reforma	<i>F. ciliaris</i>	23.42±1.41	0.36±0.07
Hipico	<i>F. ciliaris</i>	17.52±3.24	0.14±0.06
Pilita	<i>F. ciliaris</i>	19.05±1.02	0.27±0.07
Santin	<i>L. angustata</i>	28.67±1.80	0.43±0.10
Tollocan	<i>F. ciliaris</i>	48.59±3.02	0.32±0.07
Lomas Altas	<i>F. ciliaris</i>	14.00±0.75	0.20±0.06
Acazulco	<i>L. angustata</i>	13.12±0.80	0.13±0.03
Pedregal	<i>L. angustata</i>	10.10±0.68	0.30±0.08
San Miguel	<i>F. ciliaris</i>	28.03±1.86	0.27±0.06
Ameyalco	<i>P. densa</i>	6.37±0.45	0.12±0.03
San Antonio	<i>L. angustata</i>	23.08±1.46	0.24±0.04
San Diego	<i>L. angustata</i>	7.82±0.49	0.34±0.21
Cacalomacán	<i>L. angustata</i>	9.13±0.63	0.21±0.04
Ciervita	<i>I. tenerum</i>	9.26±0.63	0.23±0.05

Los resultados son reportados como la media ± K; K = Incertidumbre, con un nivel de confianza del 93%.

### 6.3.2. Resultados analíticos obtenidos por TXRF

En la **Tabla 6.9** y **Tabla 6.10** se observan los resultados del contenido metálico en musgo de la ZMVT colectados en el primer y segundo muestreo, respectivamente, y analizados por la técnica nuclear de TXRF. Los resultados analíticos son reportados como la media ± D.S. (desviación estándar) de tres repeticiones con un nivel de confianza del 95%.

La precisión de las mediciones analíticas sólo se ve afectada por los errores aleatorios de las mediciones, también llamados indeterminados o accidentales, los cuales provocan que éstas caigan de un lado o del otro del valor medio. Con base en lo anterior podemos decir que la precisión de los resultados obtenidos por TXRF son satisfactorios, es decir los errores aleatorios no son significativos, ya que las DER% varían del 3-10% (Cr), 2-10% (Cu), 2-8% (Fe), 2-9% (Mn), 2-10% (Pb) y 2-10% (Zn), estos resultados (DER% < 10%) son comparables con lo obtenido por Mendil *et al.*, 2009 y Lan Lee *et al.*, 2005 para muestras de musgo.

**Tabla 6.9. Resultados del contenido metálico en musgo recolectado durante la época seca-fría de la ZMVT por TXRF (mg/Kg)**

Sitio	Especie	Cr	Cu	Fe	Mn	Pb	Zn
Negrete	<i>L. angustata</i>	18.57±1.19	15.16±0.47	8485±321	245±10	40.04±1.16	83.18±3.5
Alameda	<i>F. ciliaris</i>	32.50±3.1	32.12±2.26	9332±696	172±9	112±5	145±12
Reforma	<i>F. ciliaris</i>	27.21±0.79	40.2±0.86	6746±191	119±2	107±2.38	179±4
Hipico	<i>F. ciliaris</i>	22.32±1.15	26.17±1.0	5616±310	132±9	32.59±2.26	151±3
Pilita	<i>F. ciliaris</i>	16.93±0.75	20.68±0.8	6432±214	161±8	25.31±1.59	136±4
Santin	<i>F. ciliaris</i>	21.47±1.46	27.36±1.38	9562±232	292±10	20.36±1.51	220±16
Tollocan	<i>F. ciliaris</i>	28.49±1.19	66.78±2.6	10708±344	214±12	70.3±3.81	406±19
Lomas A.	<i>L. angustata</i>	7.14±0.69	16.96±1.28	3008±142	110±7	13.25	100±6
Acazulco	nr	-	-	-	-	-	-
Pedregal	nr	-	-	-	-	-	-
San Miguel	<i>L. angustata</i>	20.14±1.64	27.71±2.26	9812±461	236±16	35.63±2.52	149±10
Ameyalco	nr	-	-	-	-	-	-
S. Antonio	<i>L. angustata</i>	9.50±0.42	18.49±1.16	5118±301	439±9	22.28±1.1	91.33±5.9
San Diego	nr	-	-	-	-	-	-
Cacaloma.	<i>L. angustata</i>	<5	11.01±0.89	4420±237	165±5	9.89±0.68	71.52±3.14
Ciervita	<i>S. subpinnatum</i>	<5	10.22±0.90	3724±80	339±12	11.06±0.61	91.92±2.3

Los resultados son reportados como la media ± D.S. de n=3  
nr no recolectado

**Tabla 6.10. Resultados del contenido metálico en musgo recolectado durante la época de lluvias de la ZMVT por TXRF (mg/Kg)**

Sitio	Especie	Cr	Cu	Fe	Mn	Pb	Zn
Negrete	<i>L. angustata</i>	17.42±1.19	18.61±1.15	8550±530	282±19	39.84±1.98	96.04±3.40
Alameda	<i>F. ciliaris</i>	38.59±2.9	37.74±2.24	11339±417	252±8	84.72±3.37	198±10
Reforma	<i>F. ciliaris</i>	45.20±3.9	43.91±2.56	8807±483	152±13	101.01±4.46	186±11
Hipico	<i>F. ciliaris</i>	22.65±1.72	22.90±1.97	6632±560	192±12	27.78±2.25	159±6
Pilita	<i>F. ciliaris</i>	26.05±2.31	27.33±2.73	8444±475	232±13	30.61±1.46	146±8
Santin	<i>L. angustata</i>	19.88±1.25	27.78±2.14	8124±586	268±19	22.46±1.70	267±20
Tollocan	<i>F. ciliaris</i>	33.49±2.36	59.68±2.6	10067±673	276±17	73.34±2.12	372±17
Lomas A.	<i>F. ciliaris</i>	14±0.99	21.19±1.18	4036±280	121±9	14.10±1.34	99±4
Acazulco	<i>L. angustata</i>	<5	12.89±0.91	5567±383	399±25	12.86±0.95	74±2
Pedregal	<i>L. angustata</i>	15.86±1.58	17.09±1.38	3604±233	441±27	41.19±1.46	146±9
San Miguel	<i>F. ciliaris</i>	27.14±1.26	33.38±1.16	12288±443	345±22	50.15±0.68	205±4
Ameyalco	<i>P. densa</i>	<5	15.09±1.31	4319±240	219±7	22.53±0.44	76.28±7.21
San Antonio	<i>L. angustata</i>	11.31±0.67	21.97±2.15	7879±598	497±40	26.03±1.51	105±11
San Diego	<i>L. angustata</i>	14.04±1.26	15.1±0.44	5346±230	469±43	19.10±0.71	77±2
Cacalom.	<i>L. angustata</i>	<5	14.57±1.28	5959±163	215±4	13.01±1.09	84±7
Ciervita	<i>I. tenerum</i>	<5	13.96±0.9	5031±291	400±23	13.15±0.68	96±5

Los resultados son reportados como la media ± D.S. de n=3

### 6.3.3. Resultados analíticos obtenidos por AAS

En la **Tabla 6.11** y **Tabla 6.12** se observan los resultados del contenido metálico en musgo de la ZMVT colectados en el primer y segundo muestreo, respectivamente, y analizados por la técnica analítica convencional de AAS. Los resultados analíticos son reportados como la media  $\pm$  D.S. de dos repeticiones con un nivel de confianza del 95%.

<b>Tabla 6.11. Resultados del contenido metálico en musgo recolectado durante la época seca-fría de la ZMVT por AAS (mg/Kg)</b>				
<b>Sitio</b>	<b>Especie</b>	<b>Cr</b>	<b>Pb</b>	<b>Zn</b>
Negrete	<i>L. angustata</i>	25.27 $\pm$ 0.01	38.36 $\pm$ 0.73	120 $\pm$ 16
Alameda	<i>F. ciliaris</i>	38.16 $\pm$ 0.76	119 $\pm$ 1	162 $\pm$ 2
Reforma	<i>F. ciliaris</i>	31.95 $\pm$ 0.01	107 $\pm$ 0.05	158 $\pm$ 0.03
Hipico	<i>F. ciliaris</i>	28.61 $\pm$ 0.01	<0.5	163 $\pm$ 0.01
Pilita	<i>F. ciliaris</i>	21.25 $\pm$ 0.01	<0.5	123 $\pm$ 0.05
Santin	<i>F. ciliaris</i>	21.90 $\pm$ 0.01	<0.5	160 $\pm$ 0.03
Tollocan	<i>F. ciliaris</i>	33.64 $\pm$ 0.01	57.73 $\pm$ 0.01	313 $\pm$ 0.01
Lomas Altas	<i>L. angustata</i>	8.41 $\pm$ 0.01	<0.5	64.73 $\pm$ 0.02
Acazulco	nr	-	-	-
Pedregal	nr	-	-	-
San Miguel	<i>L. angustata</i>	27.44 $\pm$ 0.62	<0.5	103 $\pm$ 0.3
Ameyalco	nr	-	-	-
San Antonio	<i>L. angustata</i>	10.08 $\pm$ 0.01	<0.5	72.13 $\pm$ 0.09
San Diego	nr	-	-	-
Cacalomacan	<i>L. angustata</i>	13.47 $\pm$ 0.01	<0.5	66.38 $\pm$ 0.08
Ciervita	<i>S. subpinnatum</i>	6.73 $\pm$ 0.01	<0.5	72.66 $\pm$ 0.03

Los resultados son reportados como la media  $\pm$  D.S. de n=2  
nr No recolectado

Los resultados obtenidos por AAS tienen DER% que varían del 0.03-11% (Cr), 0.2-22% (Pb) y 1-16% (Zn), estos intervalos muestran errores aleatorios poco significativos. Sin embargo, las DER% muestran una excesiva dispersión, también, en tres determinaciones de Pb y Zn, correspondientes al segundo muestreo, se observaron errores aleatorios importantes cuyas DER% fueron de 35%, 36% y 42%, respectivamente.

**Tabla 6.12. Resultados del contenido metálico en musgo recolectado durante la época de lluvias de la ZMVT por AAS (mg/Kg)**

Sitio	Especie	Cr	Pb	Zn
Negrete	<i>L. angustata</i>	29.42±0.04	43.90±0.91	85.92±0.54
Alameda	<i>F. ciliaris</i>	40.89±0.06	86.64±5.85	145±17
Reforma	<i>F. ciliaris</i>	47.00±0.82	140±3	154±20
Hipico	<i>F. ciliaris</i>	25.83±0.41	43.94±3.08	10.82±1.26
Pilita	<i>F. ciliaris</i>	27.21±0.13	27.40±0.49	107±2
Santin	<i>L. angustata</i>	21.63±0.01	33.97±1.46	200±6
Tollocan	<i>F. ciliaris</i>	45.58±0.91	93.42±1.07	428±3
Lomas Altas	<i>F. ciliaris</i>	19.68±0.01	23.36±8.42	88.89±16.96
Acazulco	<i>L. angustata</i>	21.27±0.44	30.37±6.71	72.13±25.3
Pedregal	<i>L. angustata</i>	17.69±0.02	53.57±1.68	96.32±1.88
San Miguel	<i>F. ciliaris</i>	45.25±1.34	69.37±1.47	164±5
Ameyalco	<i>P. densa</i>	12.96±1.37	34.04±3.07	75.28±11.79
San Antonio	<i>L. angustata</i>	17.78±0.02	37.48±0.11	85.02±0.66
San Diego	<i>L. angustata</i>	11.95±0.04	20.49±0.03	68.84±2.26
Cacalomacan	<i>L. angustata</i>	14.88±1.36	13.50±1.49	66.56±4.96
Ciervita	<i>I. tenerum</i>	18.73±1.36	21.95±9.18	82.05±1.98

Los resultados son reportados como la media ± D.S. de n=2

#### 6.3.4. Resultados analíticos obtenidos por ICP-OES

En la **Tabla 6.13** y **Tabla 6.14** se observan los resultados del contenido metálico en musgo de la ZMVT colectados en el primer y segundo muestreo, respectivamente, y analizados por la técnica analítica convencional de ICP-OES. Los resultados analíticos son reportados como la media ± D.S. de tres repeticiones y manejados estadísticamente con un nivel de confianza del 95%.

Asimismo, los resultados obtenidos por ICP-OES no poseen errores aleatorios significativos, es decir la precisión es aceptable con DER% < 10% para muestras de musgo, ya que las DER% del presente trabajo variaron del 2-6% (Cr), 1-7% (Cu), 2-5% (Fe), 1-5% (Mn), 2-8% (Pb) y 2-4% (Zn) [Mendil et al., 2009].

**Tabla 6.13. Resultados del contenido metálico en musgo recolectado durante la época seca-fría de la ZMVT por ICP-OES (mg/Kg)**

Sitio	Especie	Cr	Cu	Fe	Mn	Pb	Zn
Negrete	<i>L. angustata</i>	32.50±1.45	19.90±1.10	12633±480	269±13	37.60±1.70	95.30±3.1
Alameda	<i>F. ciliaris</i>	49.35±2.50	43.15±1.9	15235±720	202±9.2	125±2.9	199±7.5
Reforma	<i>F. ciliaris</i>	41.10±1.20	45.15±2.10	9426±285	126±3.1	110.5±2.8	210±5.8
Hipico	<i>F. ciliaris</i>	36.30±0.9	30.70±0.4	8520±190	155±2.1	28.70±0.70	167±5.7
Pilita	<i>F. ciliaris</i>	28.00±0.8	25.20±0.7	9965±170	180.5±2.1	26.25±1.20	147±2.90
Santin	<i>F. ciliaris</i>	27.50±1.40	23.95±1.10	12055±495	278±11.4	14.90±0.60	175.5±6.9
Tollocan	<i>F. ciliaris</i>	41.56±1.10	61.96±1.2	12320±270	188.7±3.4	54.15±1.80	317±6.3
L. Altas	<i>L. angustata</i>	15.10±0.80	17.20±0.6	3840±120	120.1±5.6	9.70±0.70	102.5±3.5
Acazulco	nr	-	-	-	-	-	-
Pedregal	nr	-	-	-	-	-	-
San Miguel	<i>L. angustata</i>	30.16±1.15	25.80±0.9	10590±390	187±5.6	24.30±0.95	125±5.3
Ameyalco	nr	-	-	-	-	-	-
San Antonio	<i>L. angustata</i>	15.90±0.55	16.60±0.6	5760±220	421±12.5	14.50±0.60	80.10±3.5
San Diego	nr	-	-	-	-	-	-
Cacalom.	<i>L. angustata</i>	16.15±0.60	12.60±0.9	6250±150	167±3.3	9.80±0.40	69.20±1.5
Ciervita	<i>S. subpinnatum</i>	13.90±0.25	14.25±0.35	4350±120	360±10.3	10.08±0.50	92.60±2.6

Los resultados son reportados como la media ± D.S. de n=3  
nr No recolectado

**Tabla 6.14. Resultados del contenido metálico en musgo recolectado durante la época de lluvias de la ZMVT por ICP-OES (mg/Kg)**

Sitio	Especie	Cr	Cu	Fe	Mn	Pb	Zn
Negrete	<i>L. angustata</i>	32.50±1.80	32.60±0.90	12590±450	317±12.6	31.90±1.00	106±3.6
Alameda	<i>F. ciliaris</i>	45.20±2.10	38.85±1.15	13925±435	215±8.2	74.40±1.90	177±4.9
Reforma	<i>F. ciliaris</i>	46.85±1.60	46.60±1.40	10920±450	128±2.4	85.50±3.40	170.5±4.2
Hipico	<i>F. ciliaris</i>	29.20±1.10	26.05±0.70	9422±250	194±5.6	23.35±1.30	161±4.2
Pilita	<i>F. ciliaris</i>	32.40±1.20	29.90±0.80	11300±500	231±5.3	23.10±1.10	142±2.7
Santin	<i>L. angustata</i>	24.40±1.10	28.62±0.75	10375±300	263±5.6	16.80±1.40	223±4.8
Tollocan	<i>F. ciliaris</i>	46.62±1.82	65.60±2.20	14103±320	294±10.5	60.05±2.35	325±12.5
L. Altas	<i>F. ciliaris</i>	20.75±1.22	22.30±1.10	5455±152	123±3.2	13.20±0.70	101±2.5
Acazulco	<i>L. angustata</i>	22.70±0.80	16.65±0.45	9036±300	495±12.2	11.46±0.70	97.70±3.3
Pedregal	<i>L. angustata</i>	20.30±0.75	19.70±1.40	5120±130	515±6.9	38.20±1.10	145±4.8
San Miguel	<i>F. ciliaris</i>	44.70±1.65	38.50±1.15	14826±532	294±10.3	40.70±1.38	171±3.2
Ameyalco	<i>P. densa</i>	15.00±0.70	15.10±0.60	5068±125	208±7.6	17.48±1.30	69.50±2.2
San Antonio	<i>L. angustata</i>	21.70±1.20	20.60±0.60	8910±175	455±12.3	19.50±0.80	96.15±3.2
San Diego	<i>L. angustata</i>	13.95±0.45	16.55±0.75	6790±220	3195±130	16.20±0.90	81.70±2.4
Cacalom.	<i>L. angustata</i>	15.60±0.65	22.14±1.40	7042±120	188±4.7	9.20±0.50	67.90±2.4
Ciervita	<i>I. tenerum</i>	16.60±0.70	15.10±0.50	6520±220	411±13.5	10.35±0.55	77.60±2.4

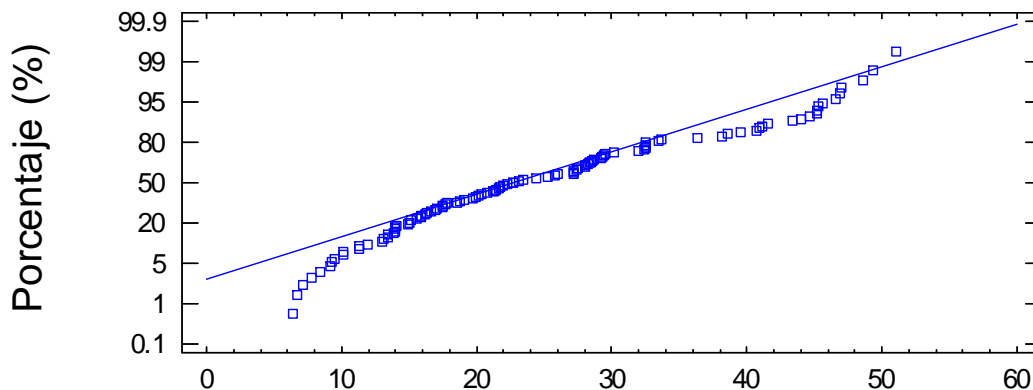
Los resultados son reportados como la media ± D.S. de n=3



#### 6.4. Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó en función de las concentraciones de Cr, obtenidas con el análisis químico nuclear y convencional del musgo recolectado en dos campañas de muestreo y en 16 sitios de la ZMVT, como variable de respuesta y como factor de estudio la técnica analítica empleada, esto con la finalidad de saber si la concentración mostró diferencias estadísticas significativas atribuidas a la técnica analítica empleada.

El diseño experimental propuesto fue de un factor con un nivel de confianza del 95%, a través de un análisis de varianza (ANOVA), la validez de éste recae en tres supuestos que deben verificarse: normalidad, varianza constante e independencia de los residuos. Por ello, se realizó una gráfica de probabilidad normal para verificar visualmente que los datos siguen una distribución normal, esto se comprobó al ver que dicha gráfica es “más o menos lineal”, tal y como se observa en la **Figura 6.3**. Además de esta evaluación visual, se examinó la normalidad través del método analítico ji-Cuadrada con un nivel de confianza de 99% que contrasta la hipótesis  $H_0$ : Hay normalidad contra  $H_A$ : No hay normalidad y cuya significancia observada ( $p=0.038$ ) fue mayor al nivel de significancia, esto probó que los datos se ajustan a una distribución normal [Gutiérrez-Pulido y De La Vara-Salazar, 2008].



**Figura 6.3.** Gráfica de probabilidad normal

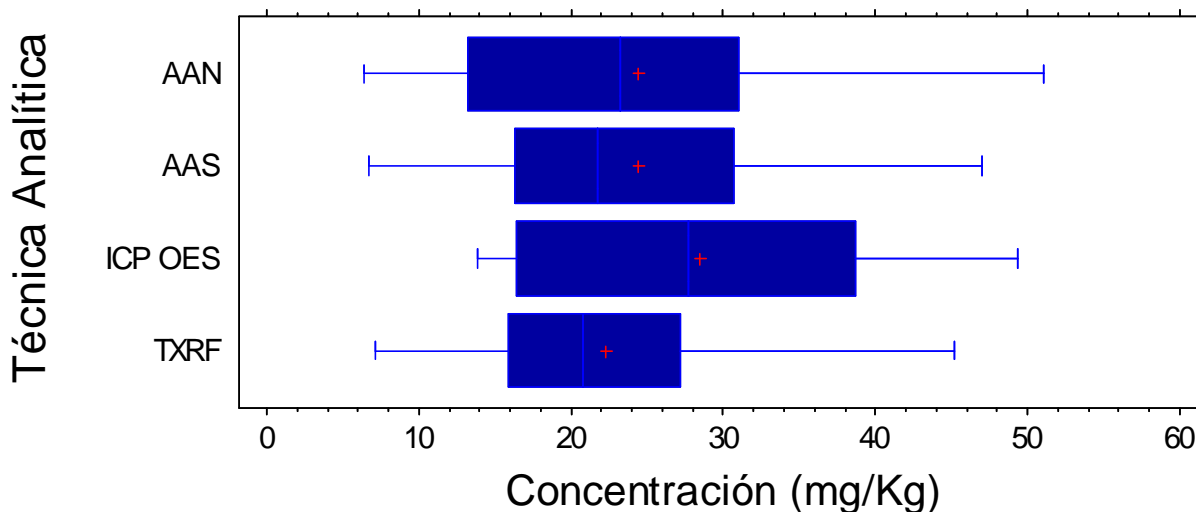
Para corroborar la homogeneidad de varianzas se realizó la prueba de Bartlett a un nivel de confianza del 95%, resultando una significancia  $p=0.483 > 0.05$ , por tanto se asume que este supuesto se cumplió y es posible llevar a cabo la ANOVA del diseño planteado. El supuesto de independencia se corroboró visualmente [Gutiérrez-Pulido y De La Vara-Salazar, 2008].

El resultado de dicho diseño se observa en la **Tabla 6.15** donde se demostró que no existen diferencias significativas, ya que  $p > 0.05$ . Es decir, no existe evidencia para concluir que el tipo de técnica analítica empleada posea un efecto importante sobre la concentración de Cr cuantificada en musgo de la ZMVT.

Tabla 6.15. ANOVA para la comparación de técnicas analíticas					
Fuente de variabilidad	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F <sub>0</sub>	p
Técnica analítica	512.263	3	170.754	1.26	<b>0.2918</b>
Error	13812.7	102	135.418		
Total	14324.9	105			

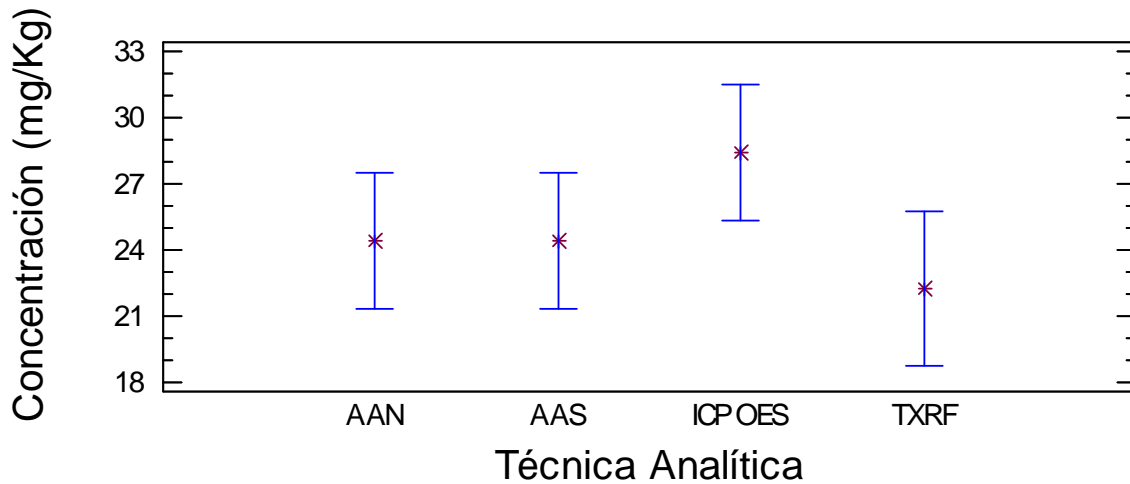
F<sub>0</sub>: Estadístico de prueba  
p: Significancia observada

Asimismo, en la **Figura 6.4** se muestra un diagrama de cajas simultáneo para las técnicas analíticas que representa de forma descriptiva la comparación de las cuatro técnicas analíticas usadas para cuantificar el Cr en el musgo. Se observa en todos los casos el traslape de las “cajas” por lo que se confirma visualmente que no existan diferencias entre las técnicas analíticas.



**Figura 6.4.** Diagrama de cajas simultáneo de técnicas analíticas

En la **Figura 6.5** se muestra el gráfico de medias, el cual permite hacer una comparación visual y estadística de las medias de las técnicas analíticas con el método LSD (por sus siglas en inglés, diferencia mínima significativa) al 95%, los cuales en todos los casos se traslapan, esto refuerza la idea de que las técnicas analíticas fueron estadísticamente iguales y por tanto son comparables.



**Figura 6.5.** Gráfico de medias de técnicas analíticas con el método LSD

También, se realizó la prueba de rango múltiples para detectar las diferencias mínimas significativas (método LSD) que existen al contrastar las medias de cada par de técnicas analíticas con una confianza del 95%, las diferencias en ningún caso fueron significativas, tal y como se aprecia en la **Tabla 6.16**. Sin embargo, se observó que la mayor diferencia muestral absoluta fue para el contraste ICP OES-TXRF y la menor para el contraste de AAN-AAS, lo cual es congruente con el gráfico de medias.

Tabla 6.15. Comparación o prueba de rango múltiples		
Contraste	Diferencia muestral	Diferencia significativa
AAN-AAS	-0.0703571	No
AAN-ICP OES	-4.04643	No
AAN-TXRF	2.1136	No
AAS-ICP OES	-3.97607	No
AAS-ICP-OES	2.18396	No
ICP OES-TXRF	6.16003	No

### 6.5. Calidad analítica

Los parámetros de desempeño, el análisis estadístico y características económicas/operativas, conjuntamente, permitieron determinar que técnica analítica convencional o nuclear fue la que mostró la mejor calidad para el análisis químico de metales en musgo.

Con respecto a los parámetros de desempeño, la exactitud mostró la siguiente una tendencia decreciente: ICP-OES  $\approx$  AAN > TXRF > AAS. Significativos errores sistemáticos se presentaron para AAS en la evaluación de los MRC para el Cr y Pb.

La precisión fue aceptable para todas las técnicas según lo reportado en la literatura, aunque siendo puntuales, se observa la tendencia decreciente siguiente: TXRF > ICP-OES  $\approx$  AAN > AAS. Asimismo, el Cr presenta la mayor variabilidad con todas las técnicas y por tanto mayores errores aleatorios.

Las técnicas analíticas nucleares y convencionales cumplen satisfactoriamente con el parámetro de linealidad (ICP-OES = AAN = TXRF = AAS). Igualmente, la capacidad de detección y cuantificación sigue el orden decreciente que a continuación se muestra: ICP-OES > AAN > AAS > TXRF.

El análisis estadístico indicó que no hay diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) y por tanto no hay evidencia de que exista un efecto sobre de las mediciones analíticas del musgo atribuible a la las técnicas analíticas empleada, siendo comparables tanto las técnicas analíticas nucleares (AAN y TXRF) como las convencionales (AAS y ICP-OES). Sin embargo, ICP-OES y TXRF mostraron la mejor precisión de los resultados analíticos del musgo comparativamente con AAN y AAS, así como la mayor diferencia muestral, ésta asociada a un error sistemático negativo relacionado potencialmente con la digestión incompleta de las muestras en TXRF (esto fue discutido en el artículo generado por esta investigación). Aunque estadísticamente son iguales a un nivel de confianza del 95%.

Maroto, 2002 y Harvey *et al.*, 2002 sugieren que los parámetros económico/operativo de una técnica analítica tales como la inversión, mantenimiento, facilidad de uso, rapidez y simplicidad, son criterios que también definen la calidad analítica, así como la selección de metodologías analíticas para metales pesados en muestras ambientales, ya que son igualmente trascendentes que los parámetros de desempeño [Obiols y Tomás, 1990]. Como se mencionó anteriormente las técnicas analíticas nucleares o convencionales ofrecen ciertas ventajas y desventajas a considerar. Sin embargo, rutinariamente en el análisis químico, las técnicas analíticas nucleares o no nucleares deben ser competitivas y comparables [Sansoni, 1999].

En este sentido, por ejemplo, AAN es una técnica que implica altos costos de inversión y mantenimiento, poco accesible debido a sus características instrumentales (uso de un reactor nuclear), el analista debe ser experimentado, largos tiempos de análisis, aún con la ausencia del laborioso tratamiento de muestra, y pese a los aceptables parámetros de desempeño o estadísticos de calidad y a la comparabilidad de los resultados que mostró en esta investigación, no cumple de forma integral con los requerimientos de calidad para el análisis químico de un indicador atmosférico por las razones ya discutidas [Sansoni, 1999; Cano-Vega, 2007].

TXRF es una técnica analítica nuclear cuyo desarrollo se ha visto estancado, razón por la cual es poco versátil y/o universal a lado de técnicas convencionales (ICP-AES, ICP-OES), y muchas veces confundida con otras técnicas de fluorescencia de rayos X, a pesar de que comparativamente con éstas, TXRF sí es capaz de realizar análisis químico multielemental a nivel de trazas. También, posee costos de inversión, actualmente, comparables con ICP-OES y relativamente bajos costos de mantenimiento, no obstante la calibración del equipo y la instrumentación durante la instalación es muy compleja, la preparación de la muestra es laboriosa aunque el procedimiento de calibración es simple [Fernández-Ruíz, 2010; Montero-Alvárez *et al.*, 2007; Sansoni, 1999]. Si bien, TXRF presenta en esta investigación una aceptable precisión y sus mediciones analíticas son estadísticamente iguales, algunos parámetros de desempeño son cuestionables, por esto no fue ideal para el propósito establecido.

AAS es una técnica analítica altamente difundida en el análisis de metales por lo que su universalidad no es cuestionable, debido a que involucra bajos costos de inversión y mantenimiento, su manejo es sencillo y el análisis cuantitativo es rápido, aunque el análisis cualitativo está limitado, ya que los metales se analizan individualmente y no simultáneamente, es decir, no es una técnica analítica multielemental e implica en todos los casos un laborioso tratamiento de muestra y un complicado proceso de calibración. No obstante, el análisis de musgo por AAS en este trabajo fue comparable, arrojando la mayor similitud con los resultados obtenidos con AAN. Sin embargo, sumando que la exactitud y la precisión fueron problemáticas y las restricciones inherentes al análisis cualitativo en una matriz compleja (musgo) donde es indispensable dicho análisis, AAS no desempeñó cabalmente el propósito determinado.

ICP-OES es una técnica analítica convencional versátil y ciertamente difundida que implica costos de inversión competitivos y costos relativamente elevados de mantenimiento, su manejo instrumental es sencillo, es posible realizar análisis cualitativos y cuantitativos satisfactoriamente por su carácter multielemental. También, el tratamiento de muestra y la calibración del método son procesos dificultosos [Cano-Vega, 2007]. Pese a estas dificultades metodológicas, en la presente investigación ICP-OES arrojó parámetros de desempeños satisfactorios, excelente exactitud, precisión y linealidad. Además, las mediciones fueron comparables, esta técnica posea óptimas características para la evaluación de metales en musgo de la ZMVT.

Tabla 6.16. Comparación de los parámetros de desempeño, análisis estadístico y parámetros económicos/operativos de las Técnicas Analíticas					
		AAN	TXRF	AAS	ICP-OES
Parámetros de desempeño	Exactitud	✓	✓	✗	✓
	Precisión	✓	✓	✗	✓
	Linealidad	✓	✓	✓	✓
	Capacidad de detección y cuantificación	✓	✗	✓	✓
Análisis estadístico	Comparabilidad de mediciones analíticas	✓	✓	✓	✓
	Precisión de mediciones analíticas	✓	✓	✓	✓
Parámetros económico/operativos	Inversión inicial	✗	✓	✓	✓
	Mantenimiento	✗	✓	✓	✓
	Facilidad de uso	✗	✓	✓	✓
	Rapidez de análisis	✗	✓	✓	✓
	Análisis cualitativos	✓	✓	✗	✓

## 6.6. Variaciones espaciales y temporales de las concentraciones de Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Pb y Zn en musgo de la ZMVT

En la **Tabla 6.16** se observan los valores máximos, promedio y mínimos de las concentraciones de Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Pb y Zn encontrados en ambas campañas de muestreo y con cada técnica analítica. La concentración promedio de los metales en musgo de la ZMVT presentó el siguiente orden decreciente: Fe > Mn > Zn > Pb > Cr > Cu > Hg.

**Tabla 6.17. Valores máximos, promedio y mínimos de las concentraciones de Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Pb y Zn en musgo recolectado durante la época seca-fría y de lluvias de la ZMVT**

Concentración (mg/Kg)		Técnica analítica			
		AAN	TXRF	AAS	ICP-OES
Cr	Máx.	51.09	45.20	47.00	49.35
	Promedio	24.38	22.27	24.45	28.43
	Mín.	6.37	<5	6.73	13.90
Cu	Máx.	nd	66.78	nd	65.60
	Promedio		25.05		28.26
	Mín.		10.22		12.60
Fe	Máx.	nd	12,288	nd	15,235
	Promedio		6,908		9,370
	Mín.		1,375		3,840
Hg	Máx.	0.44	nd	Nd	nd
	Promedio	0.27			
	Mín.	0.12			
Mn	Máx.	nd	497	Nd	515
	Promedio		257		261
	Mín.		70		120
Pb	Máx.	nd	112	140	125
	Promedio		37.79	54.79	34.17
	Mín.		4.16	<5	9.20
Zn	Máx.	nd	406	429	325
	Promedio		147	125	143
	Mín.		50.31	10.82	67.9

nd No determinado

Los metales con mayor concentración promedio en la ZMVT fueron Fe y Mn, los cuales se asocian potencialmente a fuentes naturales de origen cortical, es decir, elementos mayoritarios en la composición del suelo y su presencia se debe principalmente a la

resuspensión de suelo, polvos fugitivos (carreteras no pavimentadas y pavimentadas, construcciones de edificios) y actividades agrícolas [Anicic *et al.*, 2009 Poblano, 2013;].

Los elementos de menores concentraciones promedio fueron el Cr, Cu, Hg, Pb y Zn su presencia está asociada a actividades antropogénicas, tales como procesos de combustión del parque vehicular, a procesos industriales, emisiones de automotores - desgaste de frenos, del hule de las llantas e interruptores de luz - [Aldape y Flores, 2008; Cervantes *et al.*, 2008; Caballero, 2009, Giordano *et al.*, 2013].

Con base en lo anterior y debido a que se corroboró que estadísticamente las técnicas analíticas usadas para cuantificar los metales en una matriz ambiental son comparables; se observó la importancia de conocer las variaciones espaciales (sitio de muestreo) y temporales (época de muestreo) de las concentraciones de metales en musgo de la ZMVT. Por ello se realizaron pruebas estadísticas paramétricas y no paramétricas donde se consideró como factor de interés el tipo de sitio de muestreo (urbano, transición o natural/protegido) y la época de muestreo (seca-fría y de lluvias), respectivamente, y las concentraciones de Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Pb y Zn como variable de respuesta.

En la **Tabla 6.17** se muestran la significancia observada (p) para los sitios de muestreo, como para la época de muestreo con Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Pb y Zn.

<b>Tabla 6.18. Significancia observada para los sitios de muestreo y época de muestreo</b>		
<b>Elemento</b>	<b>Sitio de muestreo</b>	<b>Época de muestreo</b>
	<b>p</b>	<b>p</b>
Cr	0.0000*	0.6162
Cu	0.0003*	0.7805
Fe	0.0014*	0.8892
Hg	0.0325*	0.4577
Mn	0.1877	0.0702
Pb	0.0014*	0.9629
Zn	0.0002*	0.7103

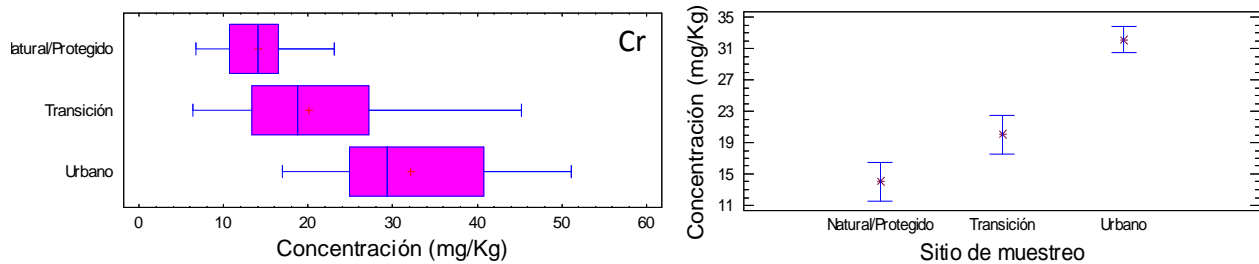
**\*Existe diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ )**



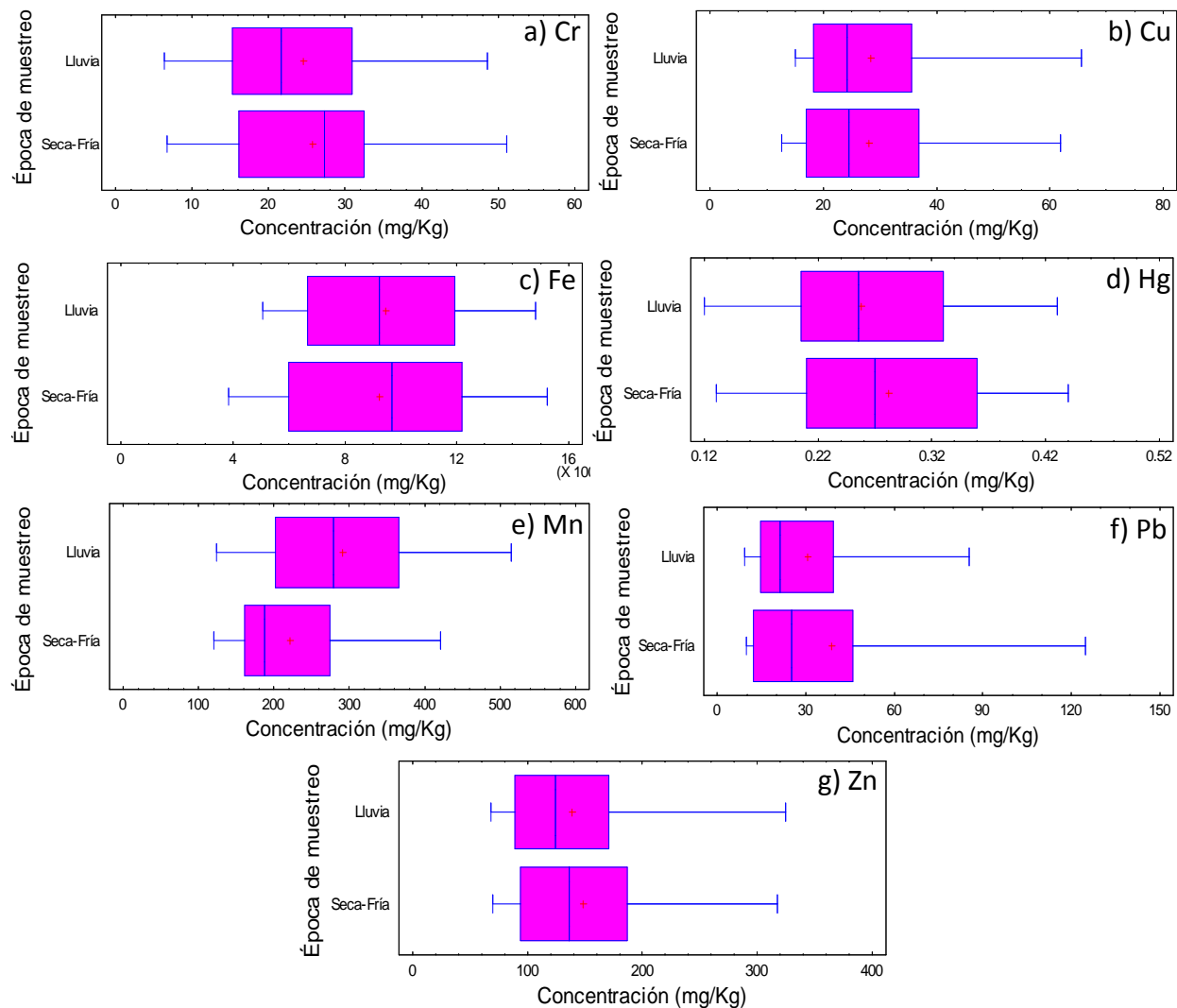
Las pruebas estadísticas indicaron que existen diferencias entre los sitios urbanos, de transición y naturales/protegidas de la ZMVT donde se recolectó musgo para Cr, Cu, Fe, Hg, Pb y Zn ( $p < 0.05$ ), excepto para el Mn ( $p > 0.05$ ) como se observa en las **Figuras 6.6, 6.8-6.13**. Mientras, que la época de muestreo para todos los elementos estudiados no existen diferencias significativas, por ello podemos decir que la concentración de los metales no se ve afectada por la época climática de la ZMVT en la que fue muestreado el musgo, ambas son estadísticamente iguales como se visualiza en la **Figura 6.7 (a-g)**.

En la **Figura 6.6** se evidenció que la mayor contribución de Cr está en los sitios urbanos de la ZMVT, lo cual se explica debido a que dichas zonas presentan variadas fuentes antropogénicas tales como las emisiones de automotores, procesos de combustión, desgaste de partes cromadas, materiales de construcción, aditivos y aceites. Mientras que la menor concentración de Cr se encuentra en los sitios naturales/protegidos y en relación con los sitios de transición no hay evidencia de diferencia significativa, por lo cual su presencia, también, está relacionada con fuentes naturales como resuspensión del suelo, ya que es un componente traza del suelo [Shotbolt *et al.*, 2007, Spagnuolo *et al.*, 2009, Migaszewski *et al.* 2011].

La presencia de Cr en la época seca-fría y la de lluvias es estadísticamente igual (**Figura 6.7-a**).



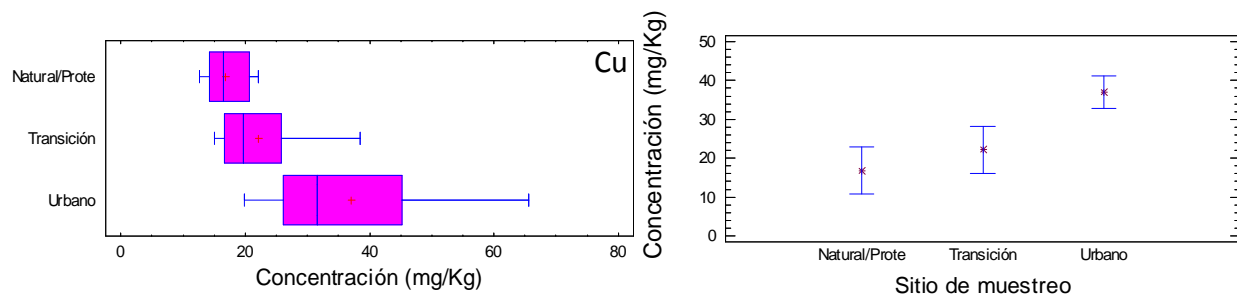
**Figura 6.6.** Diagrama de cajas simultáneas y gráfico de medias de los sitios de muestreo con el método LSD para Cr



**Figura 6.7.** Diagramas de cajas simultáneas de las épocas de muestreo para Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Pb y Zn

La presencia de Cu es significativamente mayor en los sitios urbanos de la ZMVT, los cuales están afectados por actividades humanas y por lo tanto su fuente potencial está asociada principalmente al tráfico vehicular y a procesos de combustión con altas temperaturas [Shotbolt *et al.*, 2007; Cao *et al.*, 2009; Giordano *et al.*, 2013]. Aunque los sitios de transición tienen una mayor concentración de Cu comparativamente con los sitios naturales/protegidos debido a que poseen una mayor influencia de fuentes antropogénicas, la diferencia entre estos no es significativa y por lo tanto no se pueden descartar fuentes naturales geogénicas o erosivas como podemos apreciar en la **Figura 6.8**.

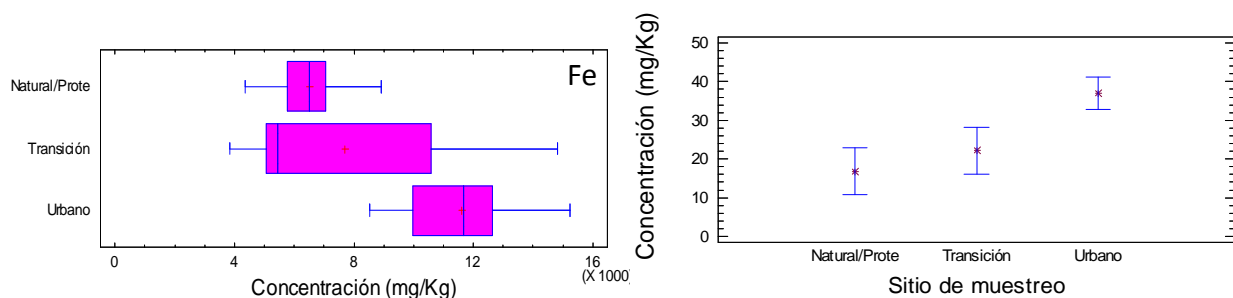
La concentración de Cu en las distintas épocas climáticas de la ZMVT es igual (**Figura 6.7-b**).



**Figura 6.8.** Diagrama de cajas simultáneas y gráfico de medias de los sitios de muestreo con el método LSD para Cu

La concentración de Fe fue la más alta en musgo de la ZMVT y cuyo origen potencial está típicamente relacionado con fuentes geogénicas, procesos erosivos, caminos no pavimentados, actividades agrícolas propios de sitios de transición y naturales/protegidos, los cuales entre ellos no presentan diferencia significativa (**Figura 6.9**) [Lan Lee *et al.*, 2005]. Sin embargo, en los sitios urbanos la contribución de Fe es mayor comparativamente con los otros sitios y por lo tanto influenciada, también, por fuentes antropogénicas tales como la industria metal-mecánica y la automovilística, al desgaste de frenos y de vías férreas de automotores e incluso por la combustión de combustibles fósiles como indican Fernández y Carballeira, 2001 y Cervantes *et al.*, 2008.

La variación de la presencia de Fe entre muestreos o época climática no es significativa como se aprecia en la **Figura 6.7-c**.



**Figura 6.9.** Diagrama de cajas simultáneas y gráfico de medias de los sitios de muestreo con el método LSD para Fe

La presencia en musgo de Hg es menor comparada con otros metales y es atribuida a fuentes antropogénicas como procesos industriales, centrales eléctricas y a residuos provenientes de automóviles como los interruptores de luz [Onianwa, 2001]. En la **Figura**

6.10 se muestra que se encuentra principalmente en sitios urbanos. Sin embargo, la mayor diferencia muestral se encontró entre los sitios urbanos y los de transición.

La época climática de la ZMVT no representa efecto sobre la concentración del Hg en el musgo (Figura 6.7-d).

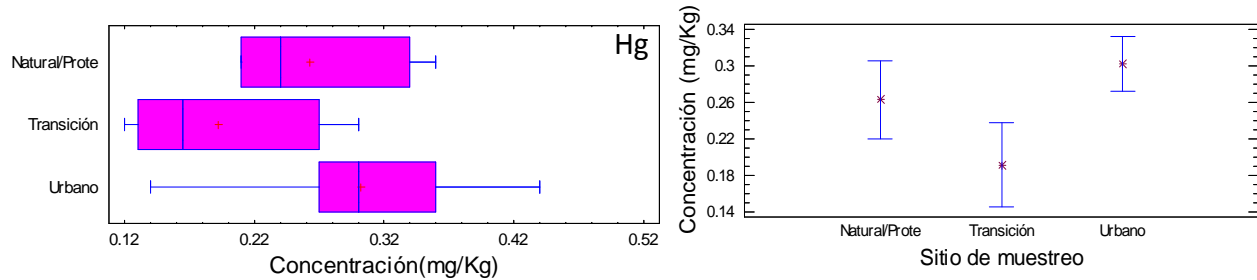


Figura 6.10. Diagrama de cajas simultáneas y gráfico de medias de los sitios de muestreo con el método LSD para Hg

El Mn se presentó en los sitios de muestreo en orden decreciente: naturales/protegidos > transición > urbano, aunque no hay evidencia estadística que el sitio de muestreo posea un efecto significativo sobre su presencia en el musgo de la ZMVT como se observa en la Figura 6.11. Las fuentes asociadas al Mn son notoriamente de origen natural geológico y autores como Cervantes *et al.* en 2008 encontraron niveles elevados de Mn en zonas no industriales, estos resultados coinciden con el reporte del GEM, 2010, donde los valores máximos de Mn en material particulado se encuentran en zonas rurales y semirurales de la ZMVT.

En la Figura 6.7-e se observa una concentración media de Mn mayor en época de lluvia, aunque no hay evidencia estadística que indique diferencias significativas entre las épocas climáticas en que se recolectó el musgo.

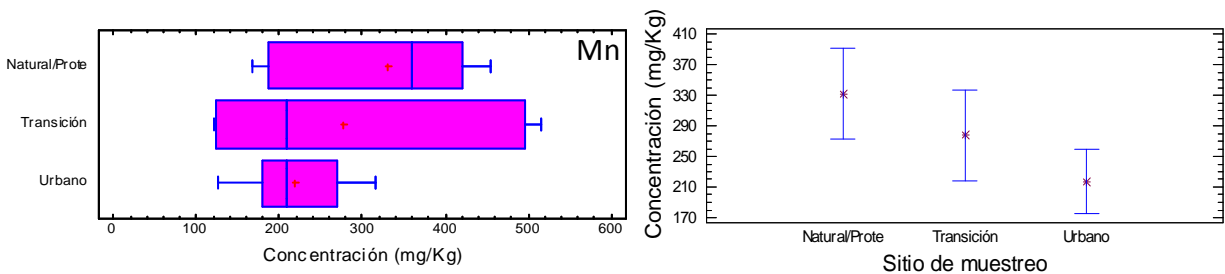
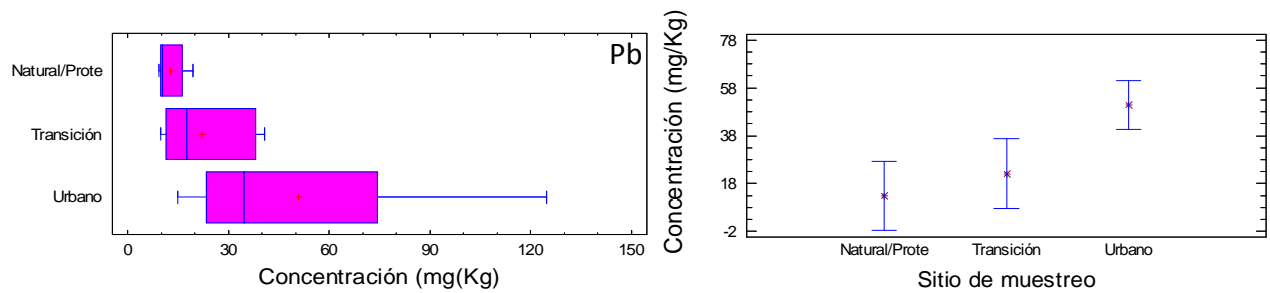


Figura 6.11. Diagrama de cajas simultáneas y gráfico de medias de los sitios de muestreo con el método LSD para Mn

La concentración de Pb es notoriamente mayor en los sitios urbanos; mientras que la diferencia entre los sitios de transición y natural/protegido no es significativa como se muestra en la **Figura 6.12**, lo cual indica que este elemento está asociando potencialmente a fuentes antropogénicas como el tráfico vehicular, procesos industriales y de combustión [Onianwa, 2001; Suchara et al., 2011; Koz et al., 2012].

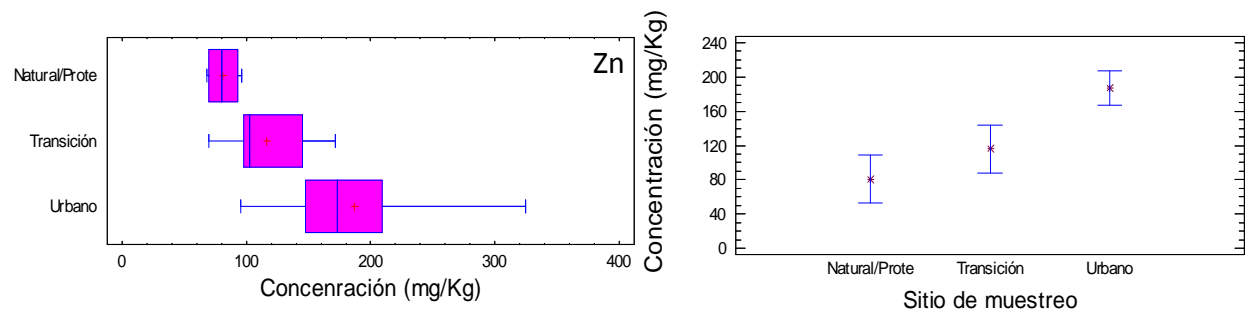
En la **Figura 6.7-f** se aprecia que la época climática de la ZMVT no afectó la presencia del Pb en el musgo.



**Figura 6.12.** Diagrama de cajas simultáneas y gráfico de medias de los sitios de muestreo con el método LSD para Pb

La concentración del Zn presentó una tendencia decreciente para los sitios de muestreo: urbano > transición > natural/protegido y por lo tanto su potencial asociación es a actividades humanas como el desgaste del hule de las llantas y frenos de automotores, antidetonante de combustibles y en procesos industriales metal-mecánicos (**Figura 6.13**) [Shotbolt et al., 2007; Cervantes et al., 2008].

Con respecto a la variación temporal, ésta no tuvo efecto evidente sobre el Zn en el musgo (**Figura 6.7-g**).



**Figura 6.13.** Diagrama de cajas simultáneas y gráfico de medias de los sitios de muestreo con el método LSD para Zn

Los sitios urbanos - Fidel Negrete, Alameda, Reforma, Hípico, La Pilita, Santín y Tolloca – presentaron la mayor concentración de Cr, Cu, Fe, Hg, Pb y Zn, todos ellos elementos relacionados a fuentes antropogénicas; esto es acorde con lo reportado con Spagnuolo *et al.*, 2009, cuyo estudio afirma que la mayor concentración de los elementos mencionados en musgos epífitos se encontró en sitios urbanos. El hecho de que dichos elementos exhiban un comportamiento similar denota que el tipo de asentamiento de estos sitios posee características análogas, estos sitios se encuentran fuertemente impactados por vialidades con alto flujo tráfico vehicular que conectan a la ZMVT y las edificaciones que no permiten la dispersión los contaminantes [Lan Lee *et al.*, 2005, Cao *et al.*, 2009].

Los sitios de transición - Lomas Altas, Acazulco, El Pedregal, San Miguel y Ameyalco- y los naturales/protegidos - San Antonio la Fe, San Diego Alcalá, Cacalomacan y La Ciervita- presentaron menores concentraciones de elementos relacionados, principalmente, con actividades humanas y las mayores de Mn, el cual fue atribuido a fuentes meramente naturales. Asimismo, estos dos tipos de sitios tuvieron las menores diferencias muestrales en todos los casos, por lo que se puede decir que sus asentamientos tienen similitudes significativas, es decir características semirurales y rurales con actividades agrícolas.

*“La conclusión es que sabemos muy poco y sin embargo es asombroso lo mucho que conocemos. Y más asombroso todavía que un conocimiento tan pequeño pueda dar tanto poder” Bertrand Arthur William Russell*

---

---

# ***Conclusiones***

---

---

## 7. CONCLUSIONES

---

Se demostró que las técnicas analíticas nucleares (AAN y TXRF) y convencionales (AAS y ICP-OES) aplicadas en el análisis químico de Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Pb y Zn en musgo de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca son comparables y por tanto todas éstas pueden, potencialmente, ser empleadas para este propósito. Sin embargo, consideraron simultáneamente los parámetros de desempeño y características económico/operativos, se recomienda ampliamente la Espectrometría de emisión óptica de plasma (ICP-OES), técnica analítica convencional, que mostró el mayor grado calidad analítica.

La concentración promedio de los metales en musgo de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca presentó la siguiente tendencia:  $Fe > Mn > Zn > Pb > Cr \approx Cu > Hg$ . El Fe y Mn son asociados a fuentes naturales geogénicas, con respecto al Fe no se puede descartar fuentes antropogénicas debido a las altas concentraciones que muestra en los sitios urbanos. Mientras que la presencia de Cr, Cu, Hg, Pb y Zn está relacionada a actividades antropogénicas.

Existen diferencias estadísticas entre los sitios urbanos, de transición y naturales/protegidos de la ZMVT donde se recolectó el musgo para Cr, Cu, Fe, Hg, Pb y Zn ( $p < 0.05$ ), excepto para el Mn ( $p > 0.05$ ).

Los sitios urbanos (Fidel Negrete, Alameda, Reforma, Hípico, La Pilita, Santín y Tollocan) presentaron la mayor concentración de Cr, Cu, Fe, Hg, Pb y Zn, ya que estos se encuentran fuertemente impactados por vialidades con alto flujo tráfico vehicular, las cuales conectan a la ZMVT.

Los sitios de transición - Lomas Altas, Acapulco, El Pedregal, San Miguel y Ameyalco- y los naturales/protegidos - San Antonio la Fe, San Diego Alcalá, Cacalomacan y La Ciervita- presentaron un comportamiento similar y la mayor concentración de Mn debido a que tienen características semirurales y rurales.

La época climática de la ZMVT en la que se realizó el muestreo no posee un efecto significativo en la presencia de los metales en el musgo.



## BIBLIOGRAFÍA

---

- Aceto M, Abollino O, Conca R, Malandrino M, Mentasti E, Sarzanini C. 2003. The use of mosses as environmental metal pollution indicators. *Chemosphere*, vol. 50, pp. 333-342.
- Aldape UF y Flores M. 2008. Las técnicas nucleares juegan un papel preponderante en la vigilancia y la investigación de la contaminación atmosférica. *Contacto Nuclear*, núm. 50, pp. 18-24.
- Anicic M, Tasic M, Frontasyeva MV, Tomasecic M, Rajsic S, Srelkova LP, Popovic A, Steinnes E. 2009. Active biomonitoring with wet and dry moss: a case study in an urban area. *Environmental Chemistry Lett.* Vol. 7, pp. 55-60.
- Antosz F, Xiang Y, Diaz AR, Jensen AJ. 2012. The use of total reflectance X-ray fluorescence (TXRF) for the determination of metals in the pharmaceutical industry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol. 62, pp. 17- 22.
- Ávila P. 2009. Proyecto EDOMEX-2009-Co2-132003, Evaluación de la contaminación por metales en la atmósfera de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT) mediante el uso de indicadores biológicos.
- Baffi C, Bettinelli M, Beone GM, Spezia S. 2002. Comparison of different analytical procedures in the determination of trace elements in lichens. *Chemosphere*, vol. 48, pp. 299-306.
- Bukowiecki N, Gehring R, Hill M, Lienemann P, Zwicky C, Buchmann B, Weingartner E, Baltensperger U. 2006. Iron, manganese and copper emitted by cargo and passenger trains in Zürich (Switzerland): Size-segregated mass concentrations in ambient air. *Atmospheric Environment*, vol. 41, pp.878-889.
- Buse A, Norris D, Harmens H, Büker P, Ashenden T, Mills G. 2003. Heavy Metals in European Mosses: 2000/2001. Survey, Centre for Ecology and Hydrology, Bangor.
- Caballero SB. 2009. Estudio de aeropartículas del Valle de Toluca mediante la recolección de agua de lluvia en las estaciones de monitoreo ambiental de la RAMAT por microscopia electrónica de barrido. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México, pp. 174.
- Camiz S, Altieri A, Manes F. 2008. Pollution Bioindicators: Statical Analysis of Case Study. *Water, Air and Soil Pollution*, vol. 194, pp. 111-139.
- Cano Vega ME. 2007. Análisis de elementos residuales depositados en la mano después de disparar un arma de fuego usando Espectroscopía de Emisión óptica por Plasma Acoplado Inactivamente Tesis de Licenciatura. Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias extractivas. Instituto Politécnico Nacional, pp. 91.
- Cao T, Wang M, An L, Yu Y, Lou Y, Guo S, Zuo B, Liu Y, Wu J, Cao Y, Zhu Z. 2009. Air quality for metals and sulfur in Shanghai, China, determined with moss bags, *Environ. Pollut.* Vol. 157, pp. 1270-1278.
- Cervantes L, Avila O, Ruvalcaba JL, Miranda J, Muñoz R. 2008. The use of biomonitors and PIXE analysis in the study of air pollution in Mexico City. *X-Ray Spectrometry*, vol. 37(156), pp. 156-162.
- Delgadillo MC. 1998. Diversidad de la brioflora Mexicana. *Diversidad biológica de México: orígenes y distribución.* Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México, pp. 355-365.
- Delgadillo MC y Cárdenas S. 2000. Urban mosses in Mexico City. *Anales del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México. Serie botánica*, vol. 71, núm. 2, pp. 63-72.
- EMA, Entidad Mexicana de Acreditación. 2008. Guía Técnica sobre Trazabilidad e Incertidumbre en las Mediciones Químicas que emplean las técnicas Espectrofotometría de Absorción Atómica y de Emisión Atómica con Plasma Acoplado Inductivamente. México.
- Fernández A, Ternero M, Barragán F, Jiménez J. 2000. An approach to characterization of sources of urban airborne particles through heavy metal speciation. *Chemosphere (Global Change Science)*, vol. 2, pp. 123-136.
- Fernández JA, Puche F, Gimeno C y Carballeira A. 1999. Primeros datos sobre el biocontrol de la deposición atmosférica de metales pesados en las provincias de Valencia, Castellón y Teruel mediante musgos terrestres. *Ecología*, vol. 13, pp. 83-91.
- Fernández JA y Carballeira A. 2001. A comparison of indigenous mosses and topsoils for use in monitoring atmospheric heavy metal deposition in Galicia (northwest Spain). Vol. 114, pp. 431-441.
- Fernández-Ruiz R. 2010. Fluorescencia de Rayos X por Reflexión Total (TXRF): Una gran desconocida. *An. Quím. Real Sociedad Española de Química*, vol. 106(1), pp. 05-12

- Gałuszka A. 2007. Distribution patterns of PAHs and trace elements in mosses *Hylocomium splendens* (Hedw.) B.S.G. and *Pleurozium schreberi* (Brid.) Mitt. from different forest communities: A case study, south-central Poland. *Chemosphere*, vol. 67, pp. 1415–1422.
- GEM, Gobierno del Estado de México. 2004. Inventario de emisiones a la atmósfera de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca. Secretaría de Ecología, México.
- GEM, Gobierno del Estado de México. 2005. Plan regional de desarrollo urbano del Valle de Toluca. Secretaría de Desarrollo Urbano, México.
- GEMa, Gobierno del Estado de México. 2007. Aire Limpio: Programa para el Valle de Toluca 2007-2011. Secretaría del Medio Ambiente, México.
- GEMb, Gobierno del Estado de México, 2007. RAMAT-ZMVT, Red Automática de Monitoreo Ambiental de Toluca - Zona Metropolitana del Valle de Toluca,
- GEM, Gobierno del Estado de México. 2010. Plan Municipal de desarrollo urbano de Toluca. Ayuntamiento de Toluca, México.
- Gerboles DB, Brown RJC, Yardley RE, Hanus-Illyar A, Salfinger M, Vallant B, Adriaenssens E, Claeys N, Roekens E, Sega K, Jurasovic J, Rychlik S, Rabinak E, Tanet G, Passarella R, Pedroni V, Karlsson V, Alleman L, Pfeffer U, Gladtko D, Olschewski A, O’Leary B, O’Dwyer M, Pockeviciute D, Biel-Cwikowska J, Tursic J. 2011. Interlaboratory comparison exercise for the determination of As, Cd, Ni and Pb in PM10 in Europe. *Atmospheric Environment*, vol. 45:34, pp. 88-3499.
- Giordano S, Adamo P, Spagnuolo V, Tretiach M, Bargagli R. 2013. Accumulation of airborne trace elements in mosses, lichens and synthetic materials exposed at urban monitoring stations: Towards a harmonization of the moss-bag technique, *Chemosphere*, vol. 90, pp. 292–299.
- Greenberg RR, Bode P, De Nadai, Fernandes EA. 2011. Neutron activation analysis: A primary method of measurement, *Spectrochimica Acta Part B*, vol. 66, pp. 193–241.
- Grodzinska K y Szarek-Lukaszewska G. 2001. Response of mosses to the heavy metal deposition in Poland: an overview. *Environmental pollution*, vol. 114, pp. 443-451.
- Günther K, Von Bohlen A, Paprott G, Klokenkämper R. 1992. Multielement analysis of biological reference materials by total-reflection X-ray fluorescence and inductively coupled plasma mass spectrometry in the semiquant mode, *J. Anal. Chem.* Vol. 342, pp. 444-448.
- Gutiérrez-Pulido H y De La Vara-Salazar R. 2008. Análisis y diseño de experimentos, Mc Graw Hill, México.
- GVMA, Guía de Validación de Métodos Analíticos. 2002. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, A.C. México.
- Harmens H, Norris DA, Koerber GR, Buse A, Steinnes E, Rühling A. 2007. Temporal trends in the concentration of arsenic, chromium, copper, iron, nickel, vanadium and zinc in mosses across Europe between 1990 and 2000. *Atmospheric Environment*, vol. 41:66, pp. 73–6687.
- Harmens H, Norris DA, Steinnes E, Kubin E, Piispanen J, Alber R, Aleksiyenak Y, Blum O, Cos M, Damh M, De Temmerman L, Fernández JA, Frolova M, Frontasyeva M, González-Miqueom L, Grodzinska K, Jeran Z, Korzekwa S, Krmar M, Kviatkus K, Leblond S, Liiv S, Magnússon SH, Mankovská B, Pesch R, Rühling Å, Santamariam JM, Schröder W, Spiric Z, Suchara I, Thöni L, Urumov V, Yurukova L, Zechmeister HG. 2010. Mosses as biomonitors of atmospheric heavy metal deposition: Spatial patterns and temporal trends in Europe. *Environmental Pollution*, vol. 158, pp. 3144-3156.
- Harvey D. 2002. Química Analítica Moderna. McGraw-Hill, España, pp. 798.
- Iturbe JL. 2001. Fundamentos de Radioquímica. Universidad Autónoma del Estado de México, pp. 293-297.
- Kempter H, Krachler M, Shotyk W. 2010. Atmospheric Pb and Ti Accumulation Rates from Sphagnum Moss: Dependence upon Plant Productivity. *Environ. Sci. Technol.* Vol. 44, pp. 5509–5515.
- Klockenkämper R. 1997. Total Reflection X-Ray Fluorescence analysis. Chemical analysis series, John Wiley and Sons, NY.
- Kmetov V, Stefanova V, Hristozov, Georgieva D, Canal A. 2003. Determination of calcium, iron and manganese in moss by automated discrete sampling flame atomic absorption spectrometry as an alternative to the ICP/MS analysis. *Talanta*, vol. 59, pp. 123-136.
- Koz, Cevik U, Akbulut S. 2012. Heavy metal analysis around Murgul (Artvin) copper mining area of Turkey using moss and soil, *Ecolog. Indicat.* Vol. 20, pp. 17–23.

- Kulkarni P, Chellam S, Flanagan JB, Jayanty RKM. 2007. Microwave digestion—ICP-MS for elemental analysis in ambient airborne fine particulate matter: Rare earth elements and validation using a filter borne fine particle certified reference material, *Anal. Chim. Acta*, vol. 599, pp. 170–176.
- Lan Lee CS, Lia X, Zhang G, Peng X, Li Zhang. 2005. Biomonitoring of trace metals in the atmosphere using moss (*Hypnum plumaeforme*) in the Nanling Mountains and the Pearl River Delta, Southern China, *Atmospheric Environment*, vol. 39, pp. 397–407.
- Larrea-Marín M, Pomares-Alfonso MS, Gómez-Juaristi M, Sánchez-Muñiz FJ. 2010. Validation of an ICP-OES method for macro and trace element determination in *Laminaria* and *Porphyra* seaweeds from four different countries. *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 23, pp. 814–820.
- LGEEPA, Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente, México, 1998.
- Krachlera M, Mohl C, Emons H, Shotyka W. 2002. Analytical procedures for the determination of selected trace elements in peat and plant samples by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Spectrosc. Acta Pt. B-Atom. Spectr.* Vol. 57, pp. 1277–1289.
- MAAMA, Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, España, 2013.
- Macedo-Miranda MG, Zarazúa G, Mejía-Zarate E, Ávila-Pérez P, Barrientos-Becerra B, Tejeda S. 2009. Simultaneous determination of elemental content in water samples by total reflection X-ray fluorescence and atomic absorption spectrometry. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, vol. 280(2), pp. 431–434.
- Machado A, García N, García C, Acosta L, Córdova A, Linares M, Giraldoth D, Velazquez H. 2009. Contaminación por metales (Pb, Zn, Ni y Cr) en aire, sedimentos viales y suelo en una zona de alto tráfico vehicular. *Rev. Int. Contam. Ambient.* Vol. 24 (4), pp. 171-182.
- Maroto SA. 2002. Incertidumbre en métodos analíticos de rutina. Tesis doctoral. Facultad de Química, Universitat Rovira y Virgili, Tarragona, pp. 286.
- Marqués MJ, Salvador A, Morales-Rubio AE, de la Guardia M. 2000. Trace element determination in sediments: a comparative study between neutron activation analysis, NAA/ and inductively coupled plasma-mass spectrometry, ICP-MS/. *Microchemical Journal*, vol. 65, pp. 177-187.
- Martínez T, Lartigue J, Zarazúa G, Ávila-Pérez P, Navarrete M, Tejeda S. 2008. Application of the Total Reflection X-ray Fluorescence technique to trace elements determination in tobacco. *Spectrochimica Acta B*, vol. 63, pp. 1469–1472.
- Meier PC y Zünd RE. 2000. *Statistical Methods in Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons, Canada.
- Mejía CMR. 2013. Análisis por activación neutrónica en muestras de musgo para la determinación de Cr, Se, As y Hg. Tesis de Licenciatura. Instituto Tecnológico de Toluca, México, pp. 109.
- Mendil D, Çelik F, Tuzena M, Soyak M. 2009. Assessment of trace metal levels in some moss and lichen samples collected from near the motorway in Turkey, *Journal of Hazardous Materials*, vol. 166, pp. 1344–1350.
- Migaszewski ZM, Gałuszka A, Dołęgowska S, Crock JG, Lamothe PJ. 2010. Mercury In mosses *Hylocomium splendens* (Hedw.) B.S.G. and *Pleurozium schreberi* (Brid.) Mitt. from Poland and Alaska: Understanding the origin of pollution sources. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 73(6), pp. 1345-1351.
- Migaszewski ZM, Lamothe PJ, Crock JG, Gałuszka A, Dołęgowska. 2011. The role of sample preparation in interpretation of trace element concentration variability in moss bioindication studies. *Environ Chem Lett.* Vol. 9, pp. 323–329.
- Miller J y Miller J. 2002. *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*. Prentice Hall. Madrid, España.
- Misra ML y Singh-Mudher KD. 2002. Total reflection x-ray fluorescence: a technique for trace element analysis in materials. *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials*, vol. 45, pp. 65-74.
- Montero-Alvarez A, Estévez Alvarez JR, Padilla Alvarez R. 2007. Heavy metal analysis of rainwaters: A comparison of TXRF and ASV analytical capabilities. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* Vol. 273-2, pp. 427–433.
- NC, Normales Climatológicas (1961-1990). 2007. Comisión Nacional del Agua, México.
- Obiols J y Tomás X. 1990. Criteria for methodology selection in metal trace analysis. Department of analytical chemistry, Instituto Químico de Sarriá, Barcelona, España.
- Onianwa PC. 2001. Monitoring atmospheric metal pollution: A review of the use of mosses as indicators. *Environmental Monitoring and Assessment*, vol. 71, pp. 13-50.
- Olmedo P, Pla A, Hernández AF, López-Guarnido O, Rodrigo L, Gil F, *Analytica Chimica Acta*, vol. 659, pp. 60–67.

- Pepi M, Reniero D, Baldi F, Barbieri P. 2006. A comparison of mercuric whole cell biosensors and moss, a bioindicator, for estimating mercury pollution. *Water, Air and Soil Pollution*, vol. 173, pp.163-175.
- Poblano BJ. 2013. Uso de briofitas como indicadores atmosféricos de metales pesados en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias de la UAEMéx, pp. 84.
- Rozet E, Marini RD, Ziemons E, Boulanger B, Hubert P. 2011. Advances in validation, risk and uncertainty assessment of bioanalytical methods. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol. 55, pp. 848–858.
- Sansoni B. 1999. Nuclear and nuclear related analytical techniques: An overview of their current applicability in environmental research and monitoring. IAEA-SM-325/152.
- Santoni CS y Lijteroff R. 2006. Evaluación de la Calidad del Aire mediante el uso de Bioindicadores en la Provincia de San Luis, Argentina. *Rev. Int. Contam. Ambient*, vol. 22(1), pp. 49-58.
- Sardans J, Montes F, Peñuelas J. 2010. Determination of As, Cd, Cu, Hg and Pb in biological samples by modern electrothermal atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B*, vol. 65, pp. 97–112.
- Shotbolt L, Bükér P, Ashmore MR. 2007. Reconstructing temporal trends in heavy metal deposition: Assessing the value of herbarium moss samples. *Environmental Pollution*, vol. 147, pp. 120-130.
- Spagnuolo V, Terracciano S, Giordano S. 2009. Trace element content and molecular biodiversity in the epiphytic moss *Leptodon smithii*: Two independent tracers of human disturbance. *Chemosphere*, vol. 74, pp. 1158–1164.
- Sternbeck J, Sjödin A y Andreasson K. 2002. Metal emissions from road traffic and the influence of re-suspension - results from two tunnel studies. *Atmos. Environ.* Vol. 36, pp. 4735-4744.
- Suchara I, Sucharova J, Hola M, Reimann C, Boyd R, Filzmoser P, Englmaier P. 2011. The performance of moss, grass, and 1- and 2-year old spruce needles as bioindicators of contamination: A comparative study at the scale of the Czech Republic, *Sci. Tot. Environ.* Vol. 409, pp. 2281–2297
- Szoboszlai N, Polgari Z, Mihucz VG, Zaray G. 2009. Recent trends in total reflection X-ray fluorescence spectrometry for biological applications. *Analytica Chimica Acta*, vol. 633, pp. 1–18.
- Tejeda S, Zarazúa G, Ávila-Pérez P, Carapia-Morales L, Martínez T. 2010. Total reflection X-ray fluorescence spectrometric determination of elements in waterhyacinth from the Lerma River. *Spectrochimica Acta B*, vol. 65, pp. 483–488.
- Thöni L, Yurukova L, Bergamini A, Ilyin I, Matthaei D. 2011. Temporal trends and spatial patterns of heavy metal concentrations in mosses in Bulgaria and Switzerland: 1990–2005. *Atmospheric Environment*. Vol. 45, pp. 1899-1912.
- WHO, World Health Organization. 2003. Health aspects of air pollution with particulate matter, ozone and nitrogen dioxide, Ginebra, Suiza.
- WHO, World Health Organization. 2007. Health risks of heavy metals from long-range transboundary air pollution. Copenhagen, Denmark.
- Wichmann E y Peters. 2000. Epidemiological evidence on the effects of ultrafine particle exposure. *Phil. T. Roy. Soc. A*. Vol. 358, pp. 2751-2769.
- Zarazúa G. 2001. Análisis cuantitativo multielemental de muestras orgánicas e inorgánicas por TXRF empleando el método de sensibilidades. Procedimiento PEA(LFX)-17. ININ.
- Zarazúa G, Ávila-Pérez P, Tejeda S, Barceló-Quintal I, Martínez T. 2006. Analysis of total and dissolved heavy metals in surface water of a Mexican polluted river by total reflection X-ray fluorescence spectrometry. *Spectrochimica Acta B*, vol. 61, pp. 1180–1184.