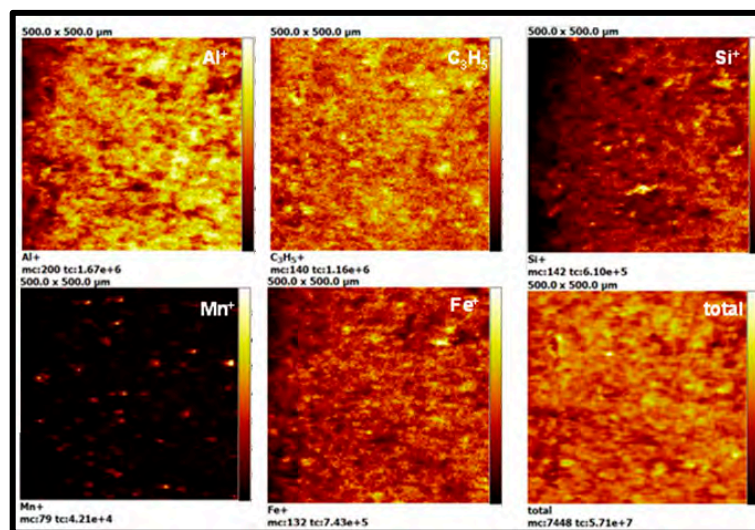
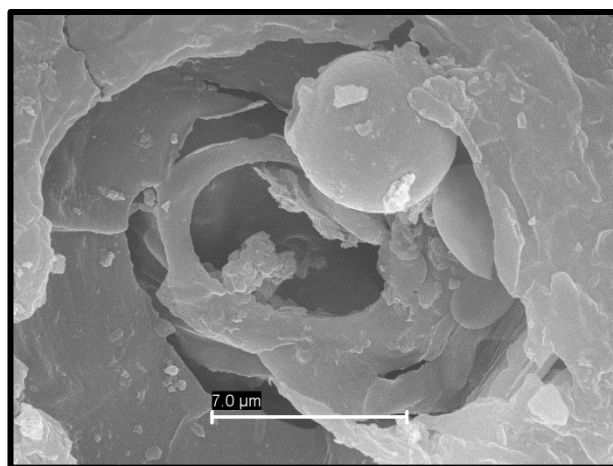


HEAVY METALS IN SOILS. IDENTIFICATION OF SORBENTS, DISTRIBUTION AMONG AMORPHOUS AND CRYSTALLINE PHASES AND PHYSIOLOGICAL RESPONSE OF NATIVE SPECIES

METALES PESADOS EN SUELOS. IDENTIFICACIÓN DE SORBENTES, DISTRIBUCIÓN ENTRE FASES AMORFAS Y CRISTALINAS Y RESPUESTA FISIOLÓGICA DE ESPECIES NATIVAS



Daniel Arenas Lago

Dra. María Luisa Andrade Couce y Dra. Flora Alonso Vega

Área de Edafología y Química Agrícola

UniversidadeVigo

Metales pesados y otros elementos potencialmente peligrosos (PHEs) en suelos

Enfoque multianalítico

Isotermas sorción /desorción

Análisis estadísticos

**Fraccionamiento
(Extracciones químicas
secuenciales)**

Scanning Electron Microscopy (SEM)

**Time of Flight Secondary Ion Mass
Spectrometry (TOF-SIMS)**

Vegetación

• **Suelos:**

Contaminados artificialmente
Pb, Cu, Cd,

Actividades extractivas

Touro - Cu

Rubiais – Pb/Zn (Cd)

**Campomarzo – Co, Cr, Ni,
V Penas Albas - Co, Cr,
Ni, V**

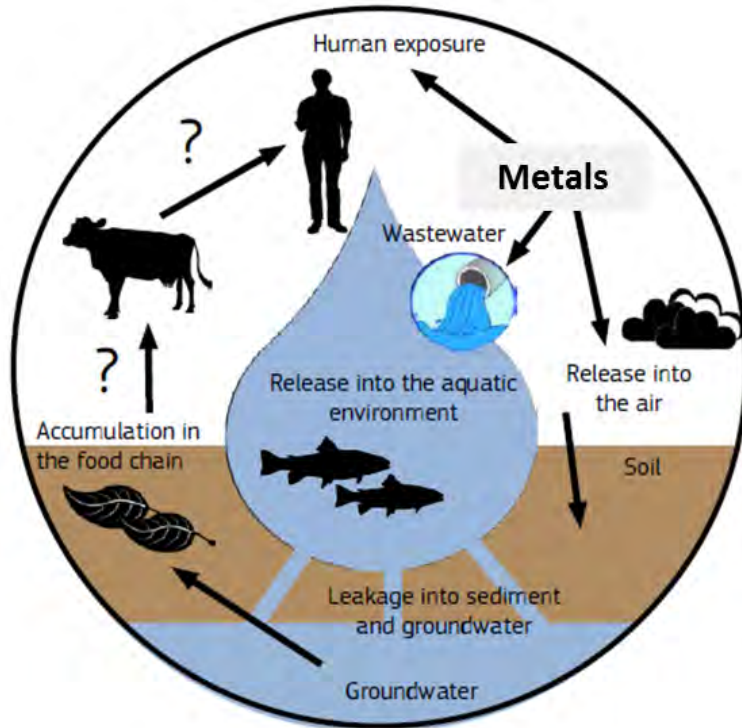
Faja Pirítica Ibérica

**São Domingos
Lousal**

***Cistus monspeliensis* L.**



Metales pesados



Residuos



Actividades

s

industriales
urbanas
agrícolas
mineras



Contaminación del
suelo

Disponibilidad y destino de
metales pesados



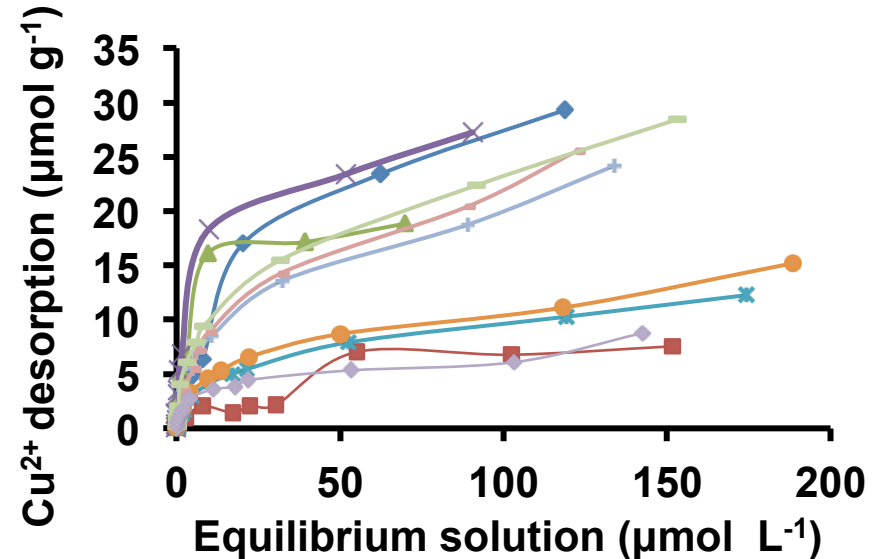
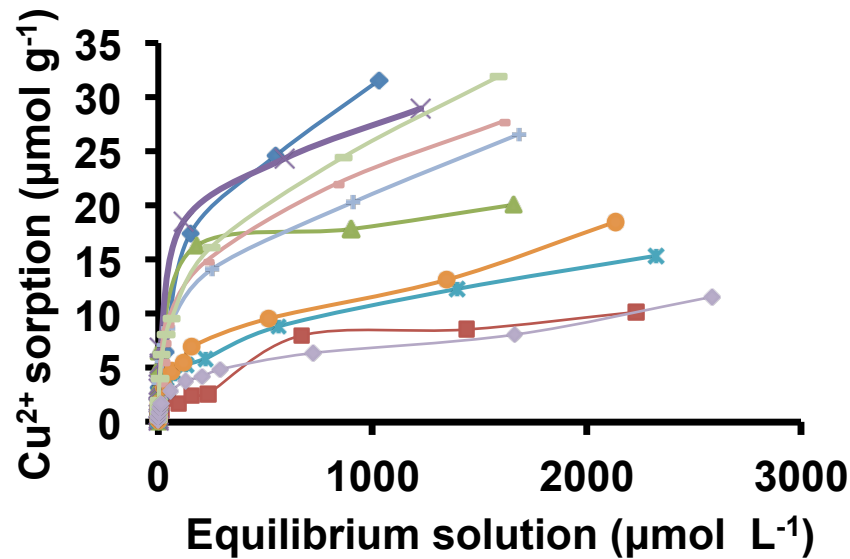
- Procesos de sorción y desorción
- Interacción con componentes del suelo
- Distribución entre las distintas fases geoquímicas

Procesos de sorción y desorción



Suelos contaminados artificialmente con metales pesados en el laboratorio

• Isotermas



Capacidad de sorción y desorción de metales pesados en suelos y la influencia de las características del suelo en los procesos de retención

No información directa:

- interacciones entre metales pesados y componentes del suelo
- distribución de metales pesados en distintas fases geoquímicas

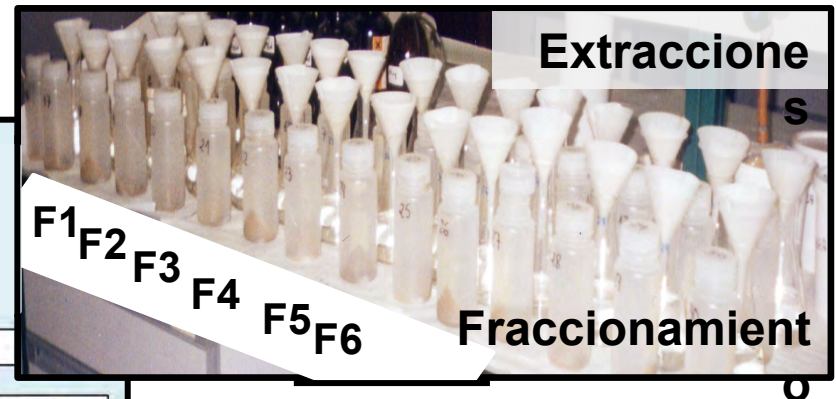
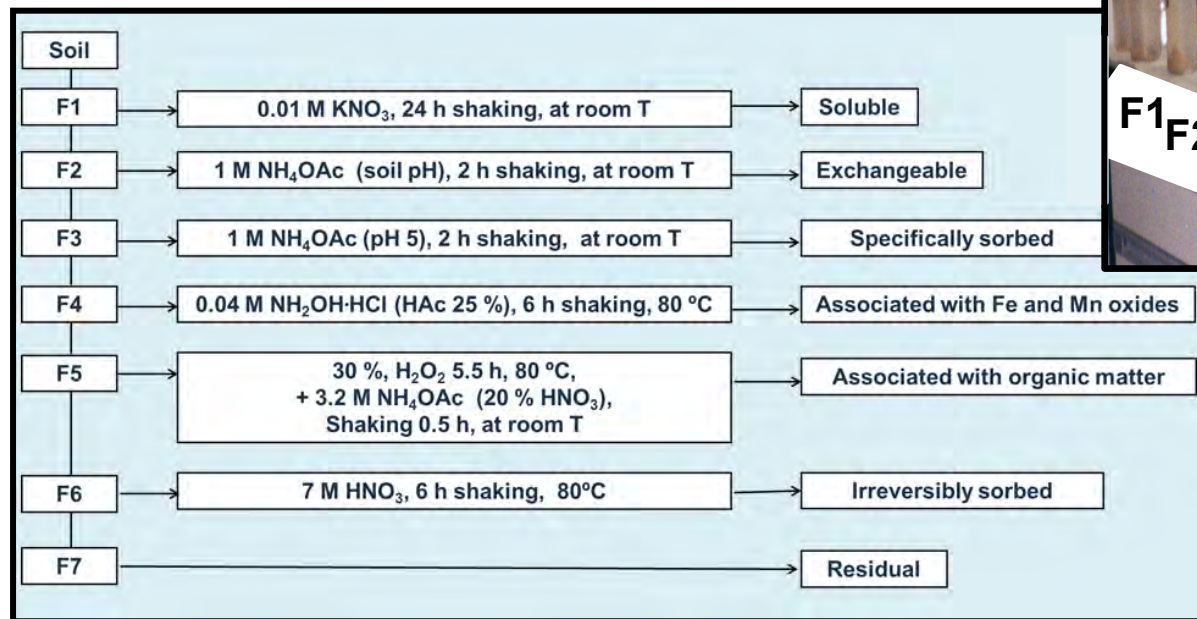
Fraccionamiento (Extracciones químicas secuenciales)

Distribución de metales en
diferentes fases geoquímicas



Evaluar: movilidad y disponibilidad

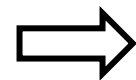
- Suelos contaminados {
 - artificialmente en el laboratorio
 - por actividades humanas o procesos naturales



Métodos indirectos



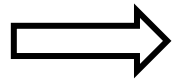
Artefactos



• Interferencias entre fracciones

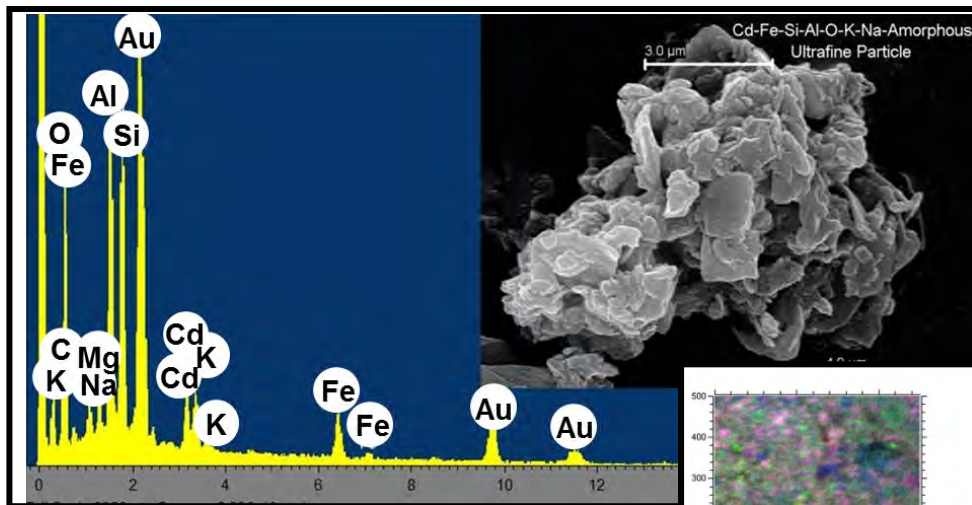
Caracterización de fases sólidas que adsorben metales pesados

Técnicas directas

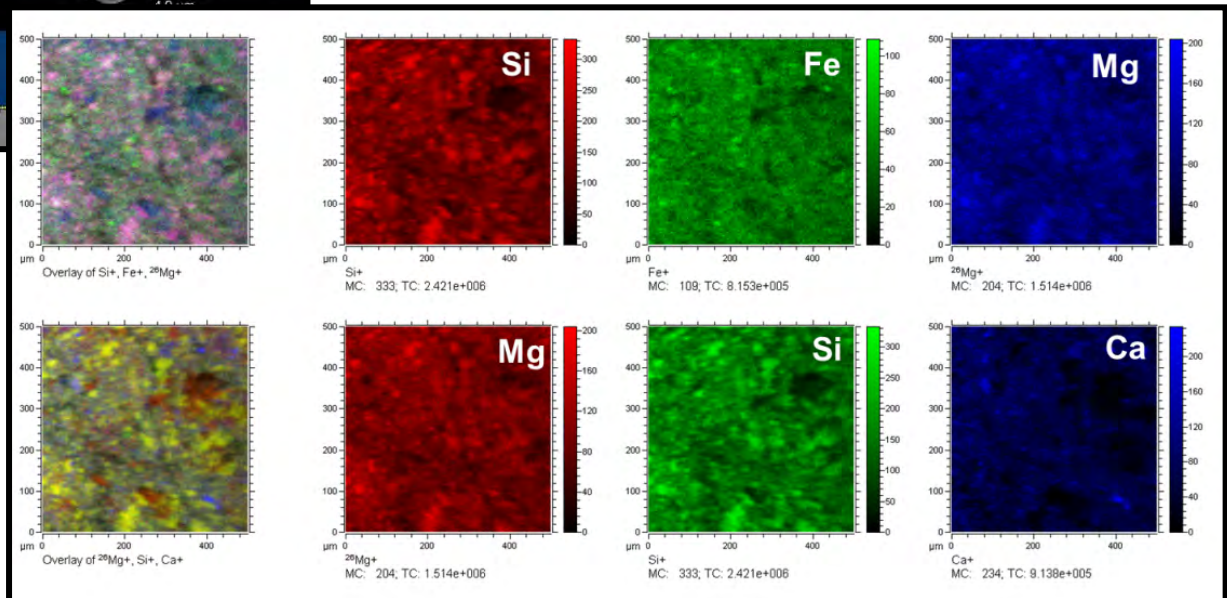


Interacciones y asociaciones entre metales y componentes del suelo

Scanning Electron Microscopy
(SEM)



Time of Flight Secondary Ion
Mass Spectrometry (TOF-SIMS)



Biodisponibilidad de metales pesados

Vegetación



**Suelos
contaminados**

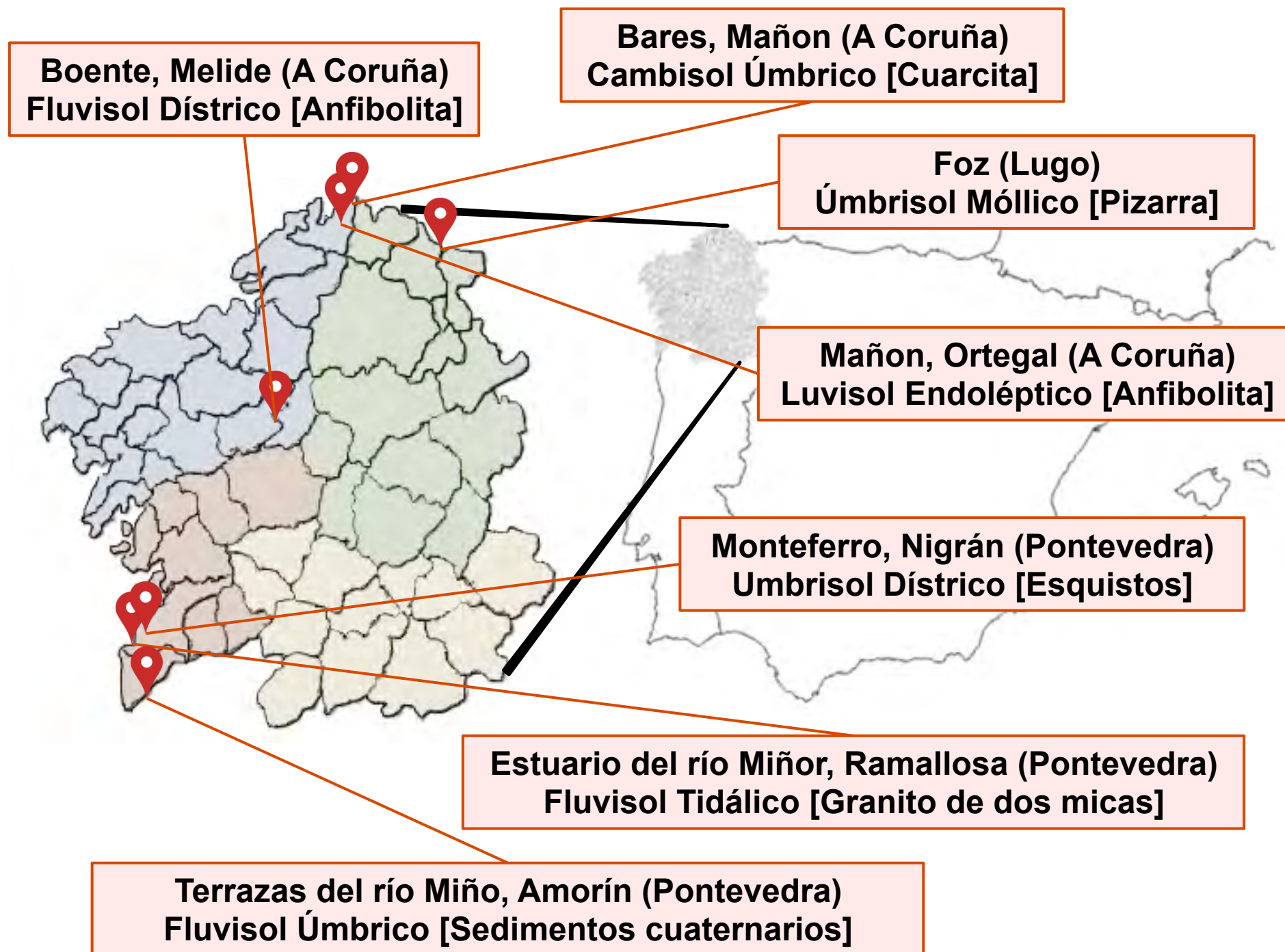


- Características desfavorables
- Altas concentraciones de metales o otros elementos potencialmente peligrosos

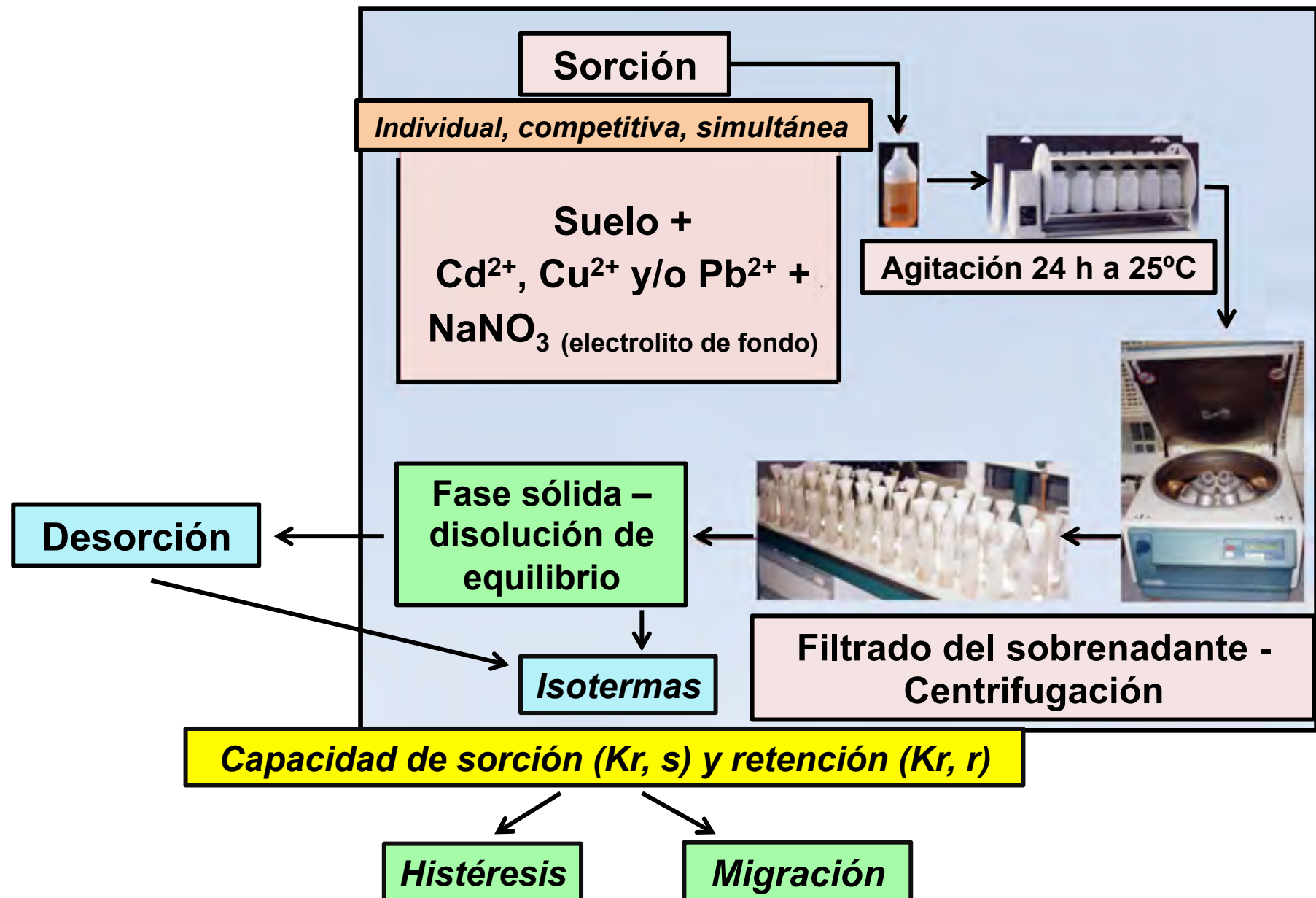


OBJETIVOS

- 1. Aumentar el conocimiento de las capacidades de sorción y retención de metales pesados en todos los horizontes de diferentes suelos, evaluando la capacidad de fijación; y profundizando en la determinación de la distribución entre los metales retenidos y las diferentes fases geoquímicas de los suelos.**
- 2. Estudiar suelos contaminados con metales pesados en áreas dedicadas a actividades extractivas; analizando no solo el contenido total, sino también el riesgo de movilidad de estos metales, mediante el estudio de su distribución e interacción con las fases geoquímicas del suelo.**
- 3. Investigar la respuesta fisiológica de las plantas que crecen espontáneamente en áreas contaminadas mediante actividades mineras.**

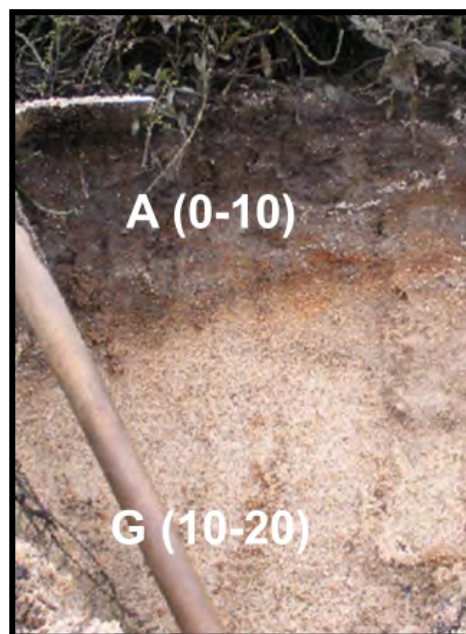


Sorción y desorción



Sorción y desorción mono y bimetálica de Cd^{2+} , Cu^{2+} y Pb^{2+}

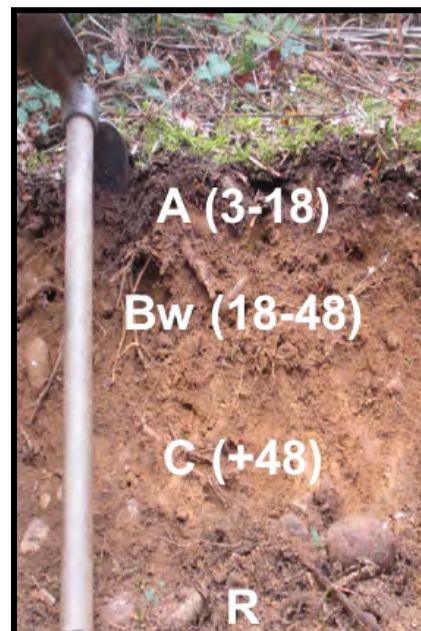
Fluvisol Tidálico



Granito de dos micas

pH
A: 6.8
G: 7.6
CICE ($\text{cmol}_{(+)}\text{kg}^{-1}$)
A: 19.3
G: 2.9
COT (g kg^{-1})
A: 58.7
G: 4.3
MnOx (g kg^{-1})
A: 0.09
G: 0.04

Fluvisol Úmbrico



Sedimentos cuaternarios

pH
A: 4.7
B: 4.9
CICE ($\text{cmol}_{(+)}\text{kg}^{-1}$)
A: 5.2
B: 2.6
COT (g kg^{-1})
A: 63.8
B: 14.6
MnOx (g kg^{-1})
A: 0.06
G: 0.02

Kr sorción individual
Kr retención individual



> Horizontes A

Análisis de correlaciones

Kr sorción
Kr retención
competitiva



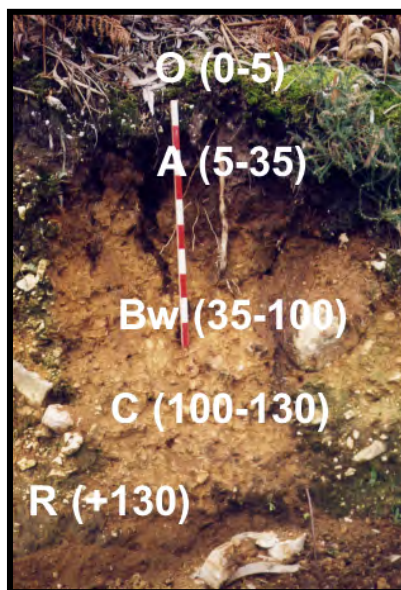
Pb > Cd
Cu > Cd
Pb > Cu

pH, CICE, COT, MnOx

Sorción y desorción mono y bimetálica Cd^{2+} y Pb^{2+}

Sorción y desorción bimetálica Cd^{2+} y Cu^{2+}

Cambisol Úmbrico



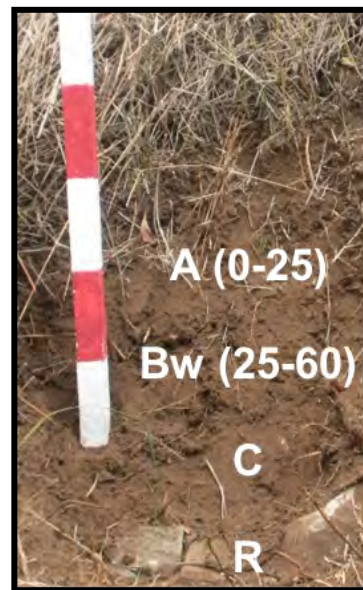
Cuarcita

Luvisol Endoléptico



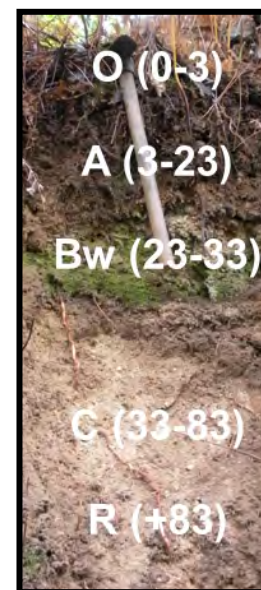
Anfibolita

Umbrisol Dístrico



Esquistos

Fluvisol Dístrico



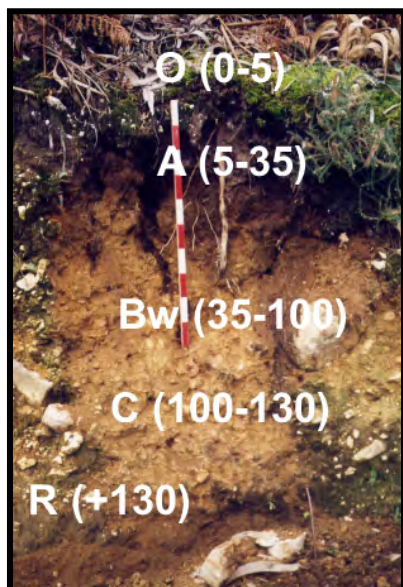
Anfibolita

Úmbrisol Móllico

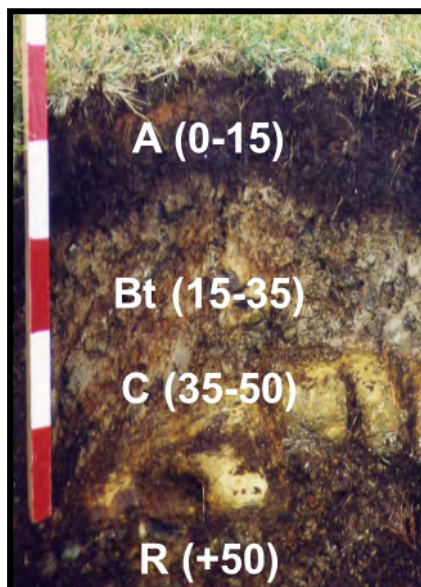


Pizarra

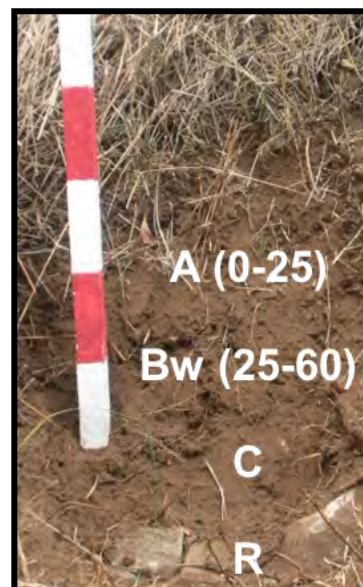
Cambisol Úmbrico Luvisol Endoléptico Umbrisol Dístrico Fluvisol Dístrico Umbrisol Móllico



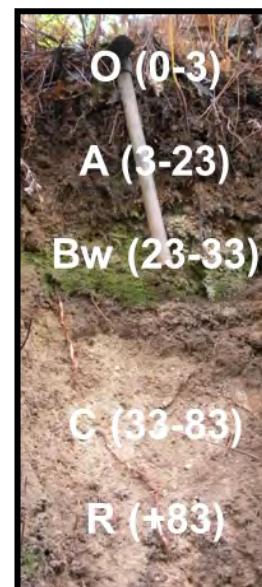
Cuarcita



Anfibolita



Esquistos



Anfibolita



Pizarra

Kr sorción y retención individual y competitiva de Pb^{2+} y Cd^{2+}

$Pb > Cd$

Hor. A > Hor. B

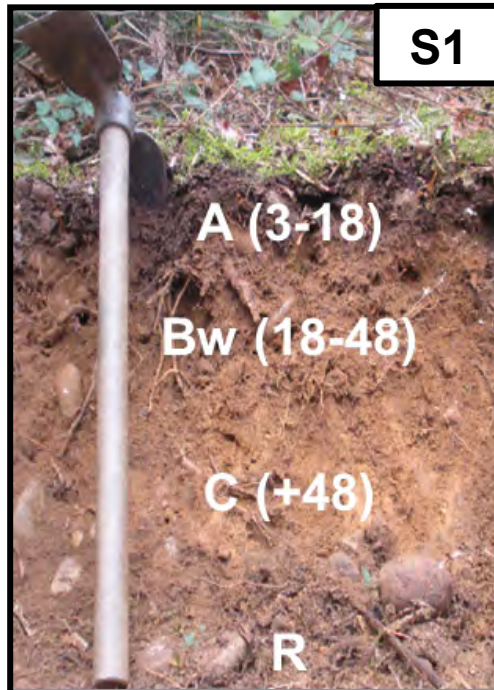
pH, ClCe, COT, FeOx, MnOx, arcilla

Kr sorción y retención competitiva de Cu^{2+} y Cd^{2+}

$Cu > Cd$

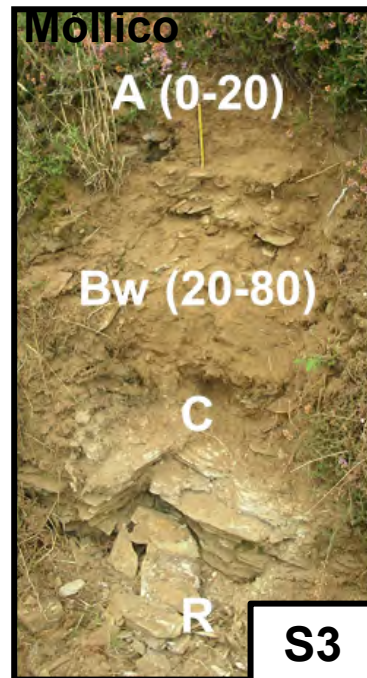
Tratamientos con Cd^{2+} , Cu^{2+} o Pb^{2+}

Fluvisol Úmbrico



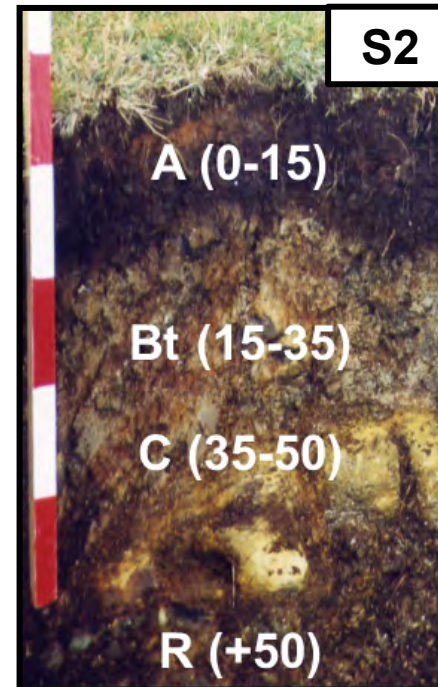
*Sedimentos
cuaternarios*

Úmbrisol



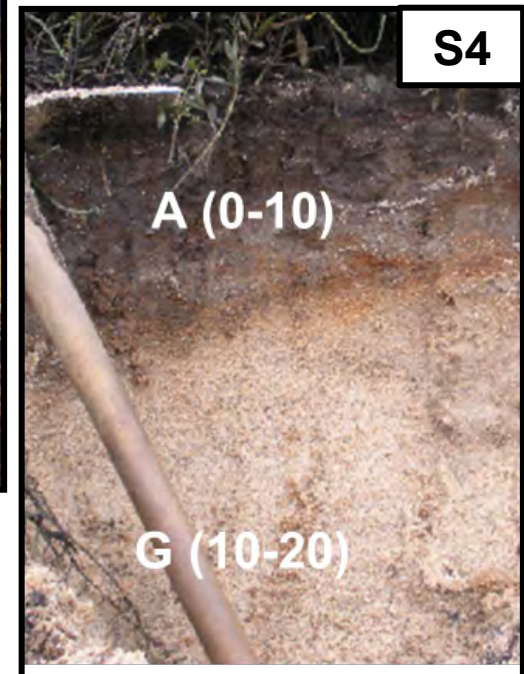
Pizarra

Luvisol Endoléptico



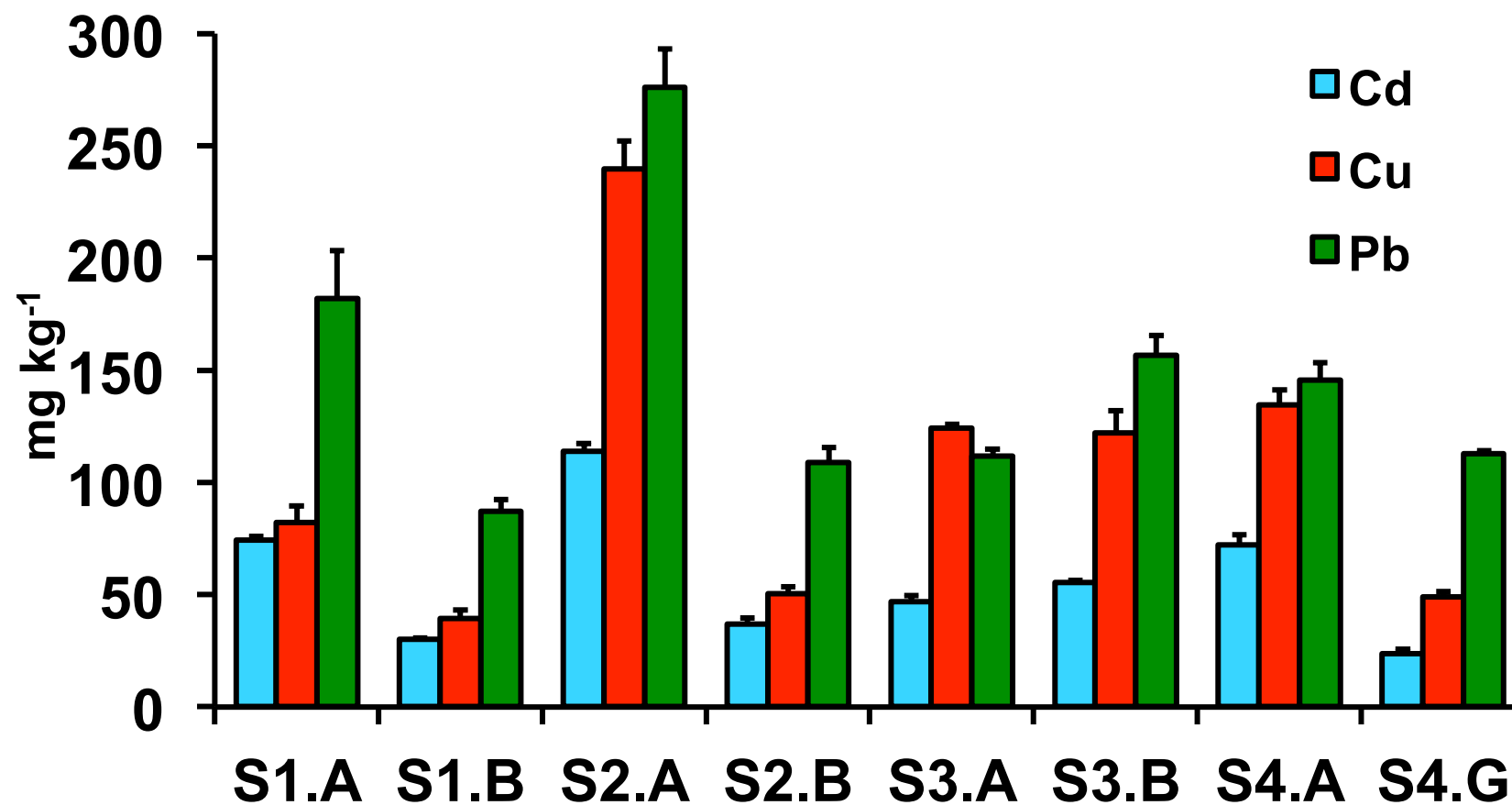
Anfibolita

Fluvisol Tidálico

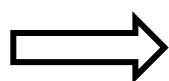


Granito de dos micas

Cantidad total fijada



Cantidad fijada



$Pb \geq Cu > Cd$

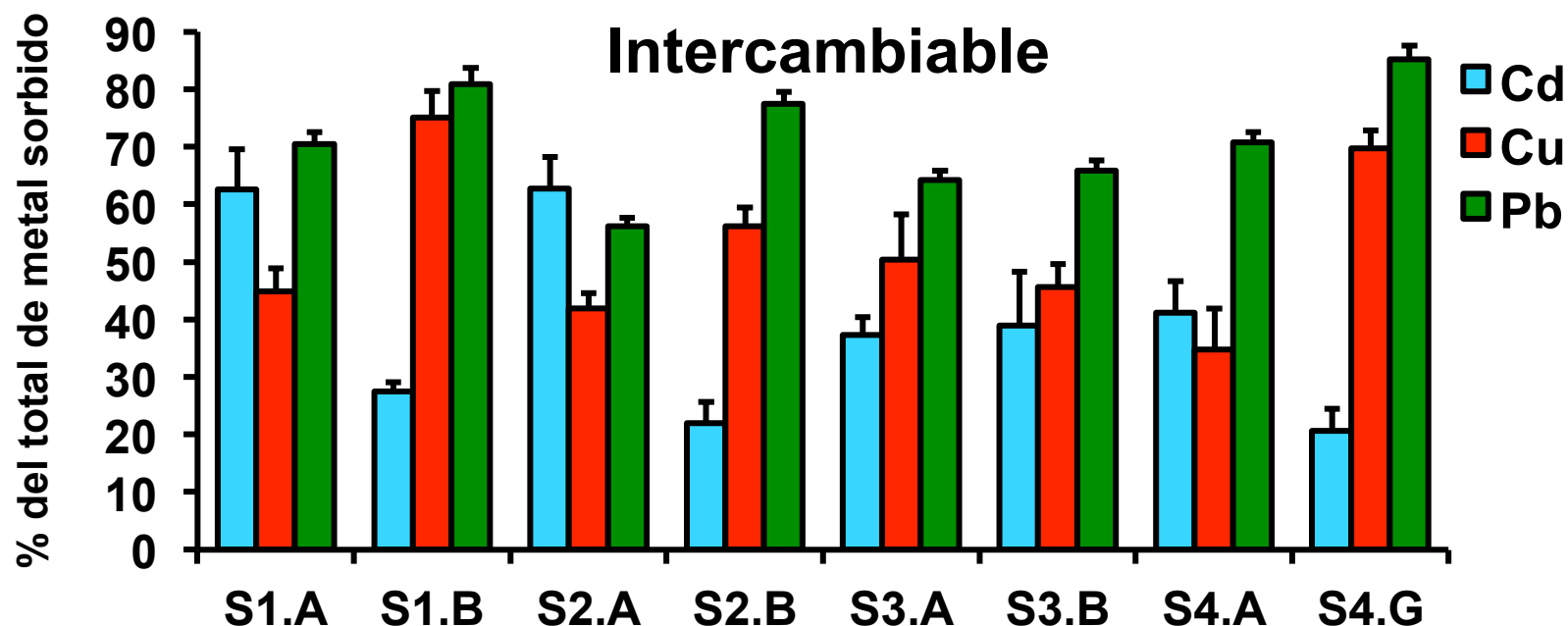
hor. A > hor. B

Fraccionamiento

1. Intercambiable
2. Fr. materia orgánica
3. Fr. óxidos de Mn

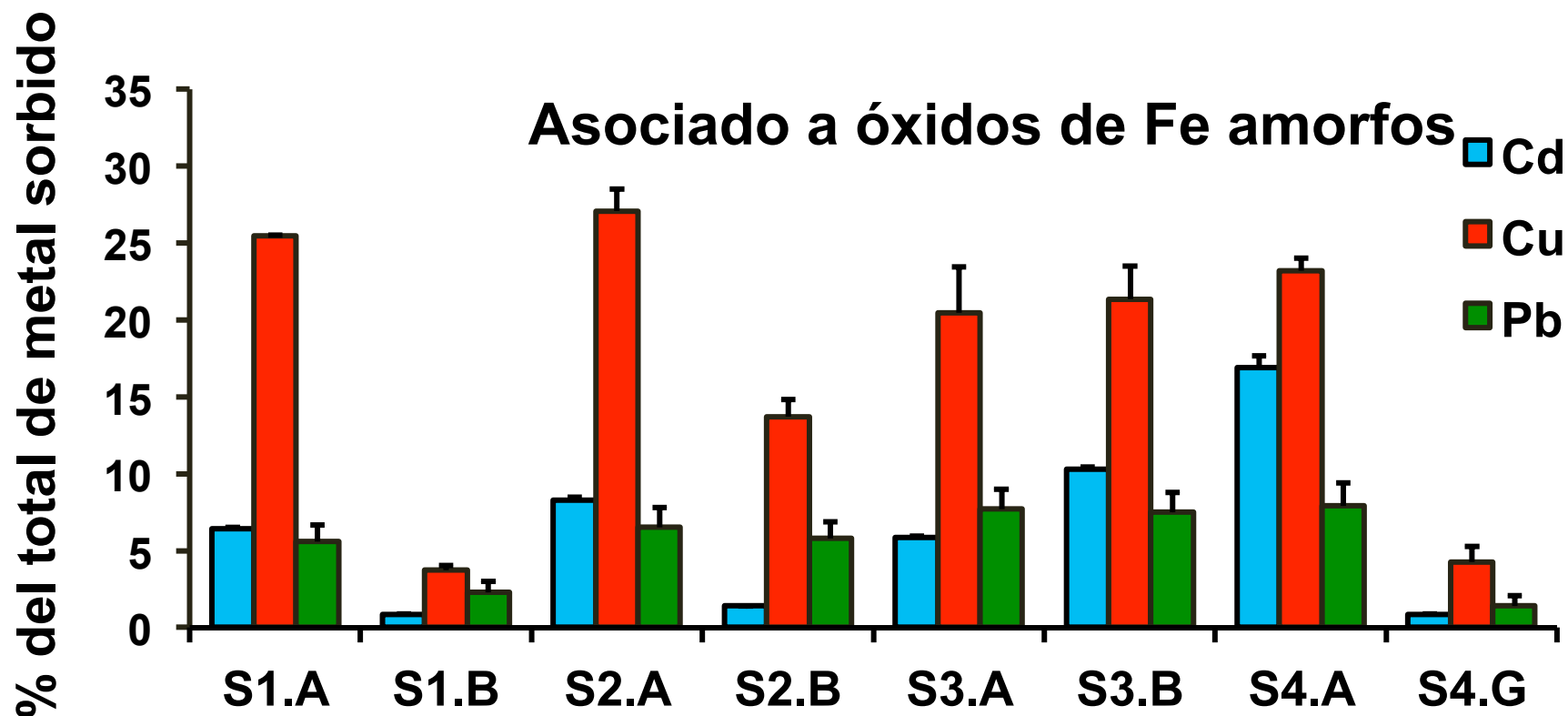
Shuman (1979, 1985) con modificaciones

4. Fr. óxidos de Fe amorfos
5. Fr. óxidos de Fe cristalinos
6. Fr. residual



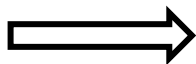
Análisis de correlaciones

Fracción	Metal	ClCe	COT	FeOx amorfos
Intercambiable	Cd	0.85**	0.95**	0.86**
	Cu	0.80**	0.90**	0.64**
	Pb	0.70**	0.83**	0.70**

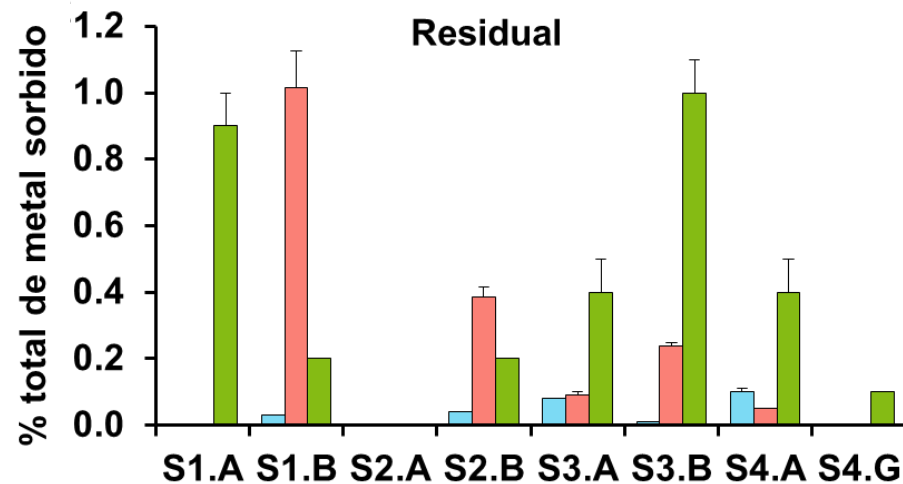
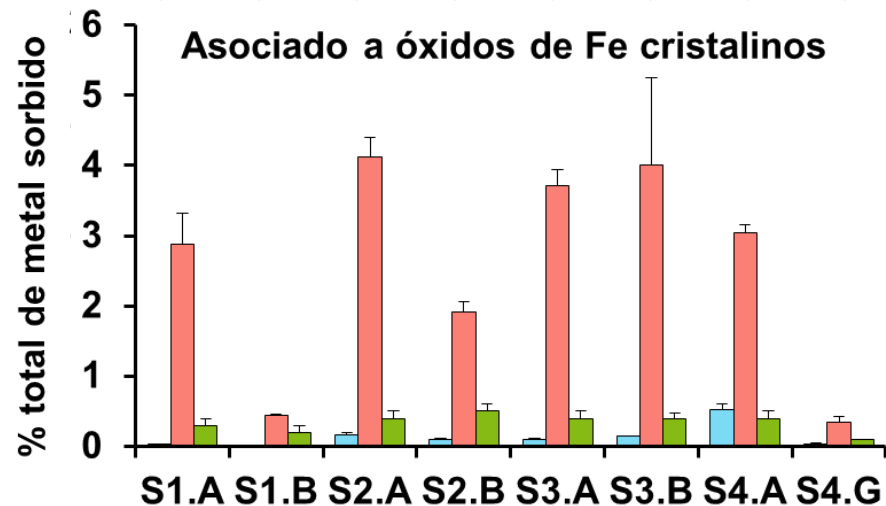
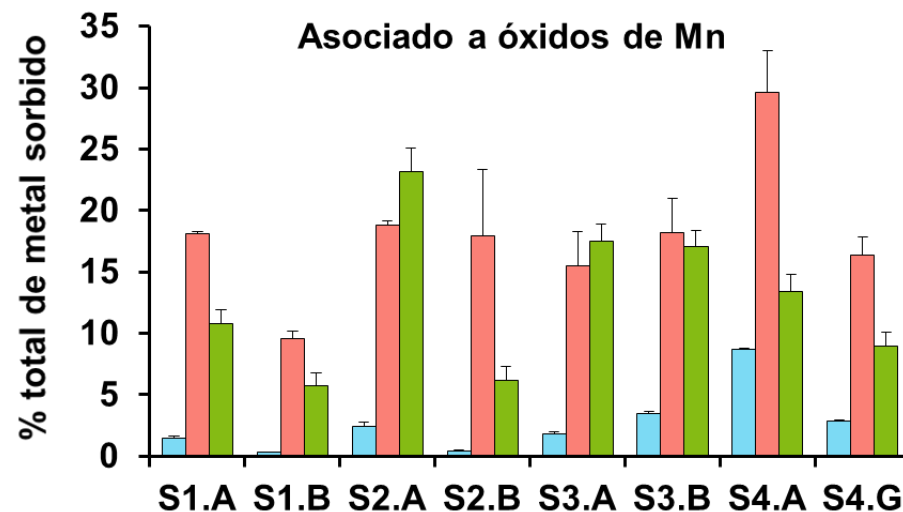
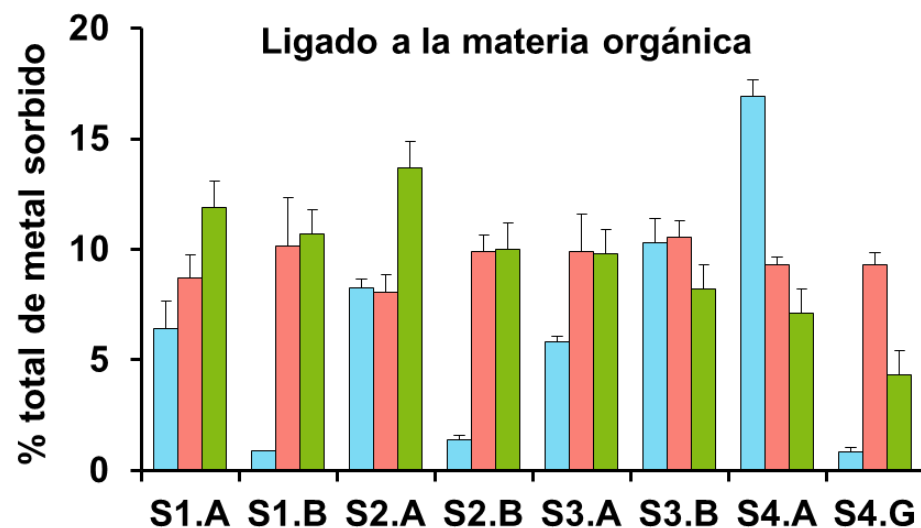


% Cu sorbido > % Cd y % Pb

Cu



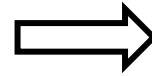
FeOx amorfos > MnOx > MO



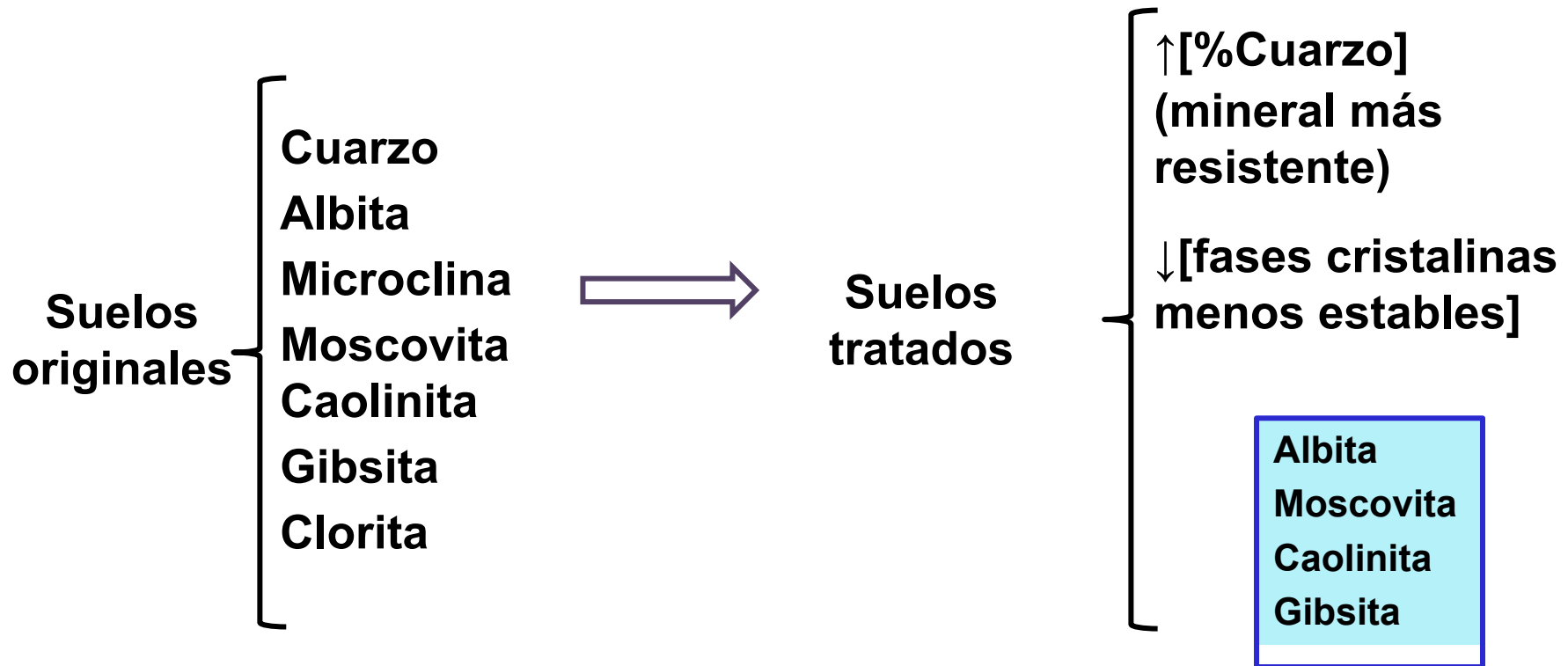
■ Cd ■ Cu ■ Pb



Análisis mineralógico

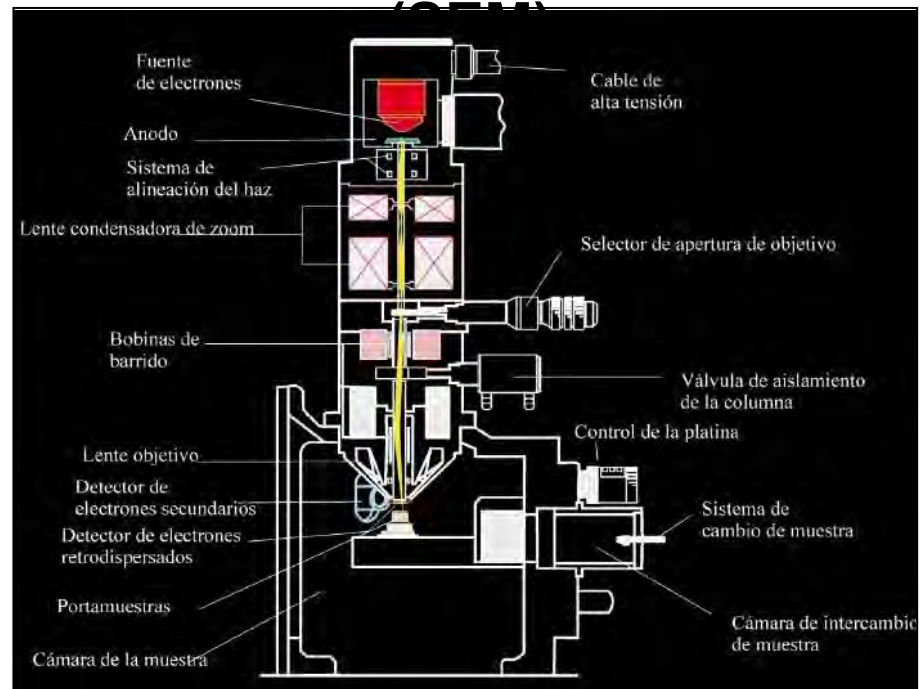


suelos + Cd^{2+} , Cu^{2+} ó Pb^{2+}

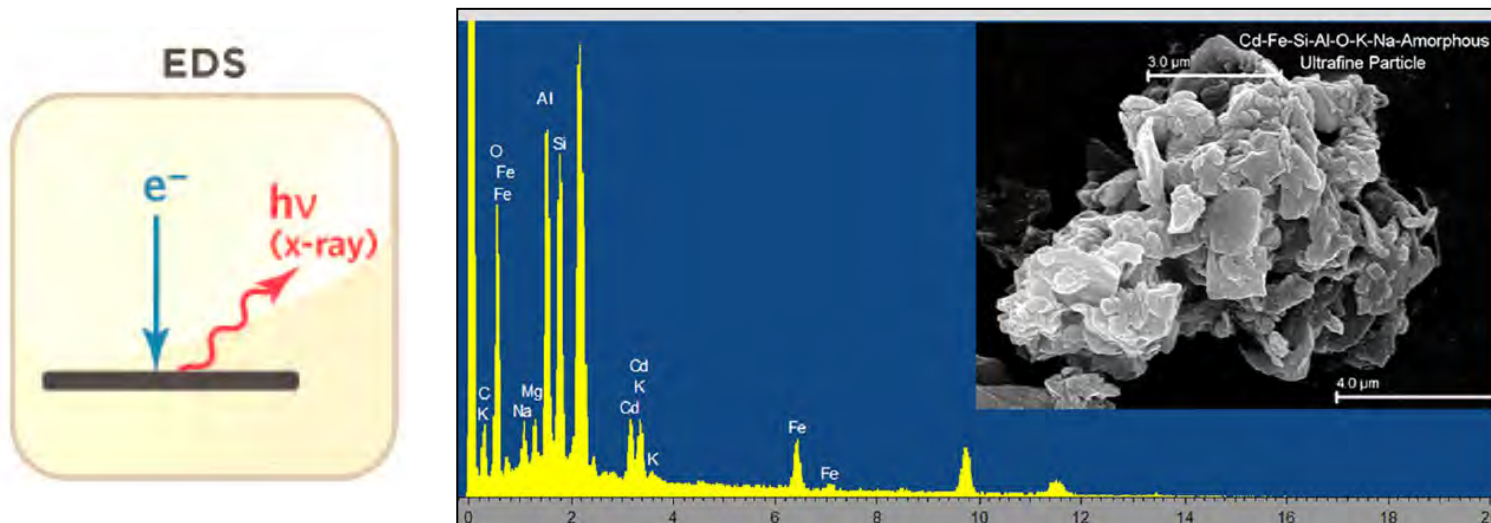


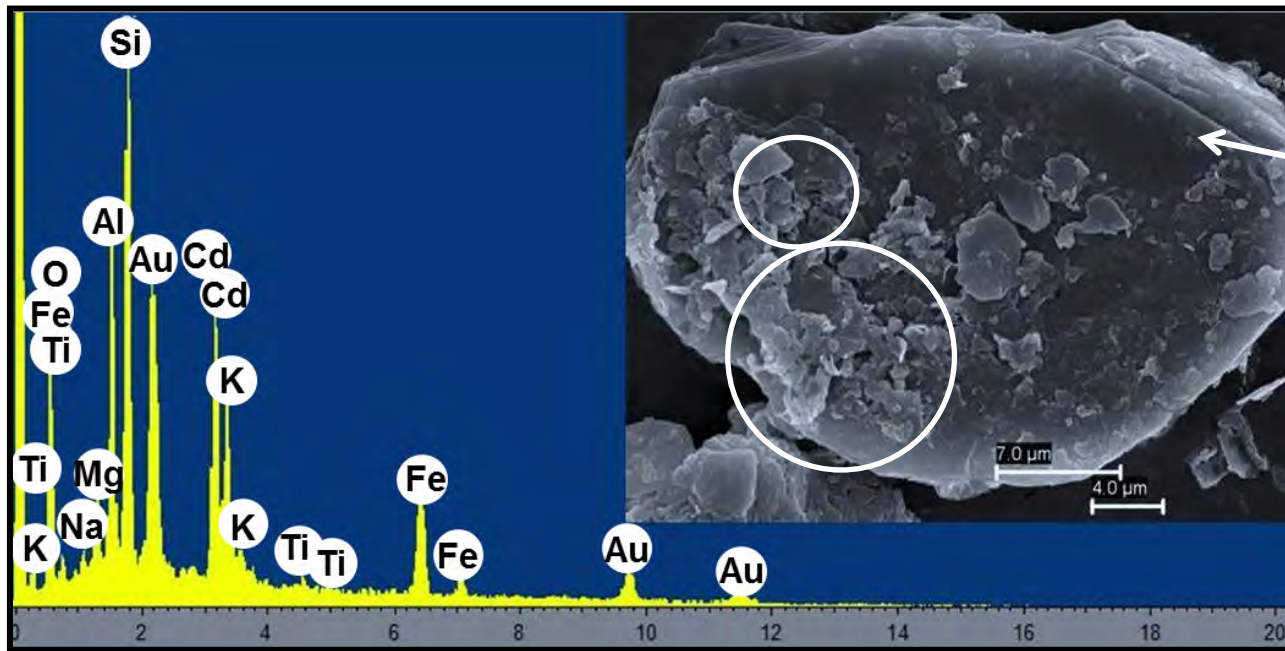
Cambios composición mineralógica

Microscopía electrónica de barrido



Espectrometría dispersiva de rayos de X (EDS)

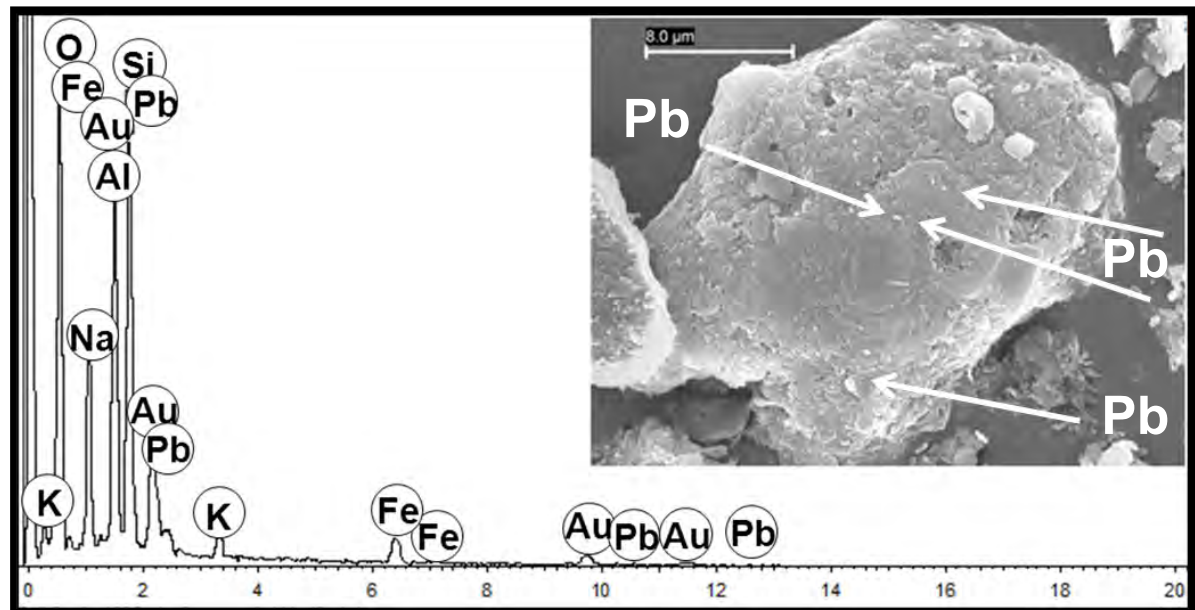




**Estructura interna
sin depósitos de
Cd**

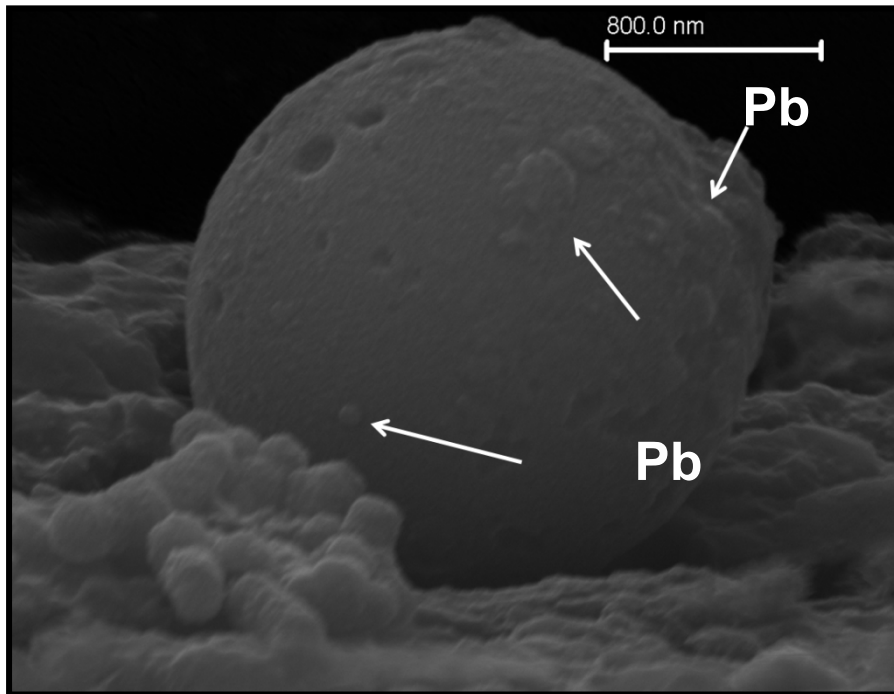
**UM.A: Geles
amorfos de Fe-Si-
O-K-Na con Cd**

**FU.A: Pb sorbido
en
hidroxicompu-
est
os amorfos de Fe
con albita,
moscovita y
gibbsita**

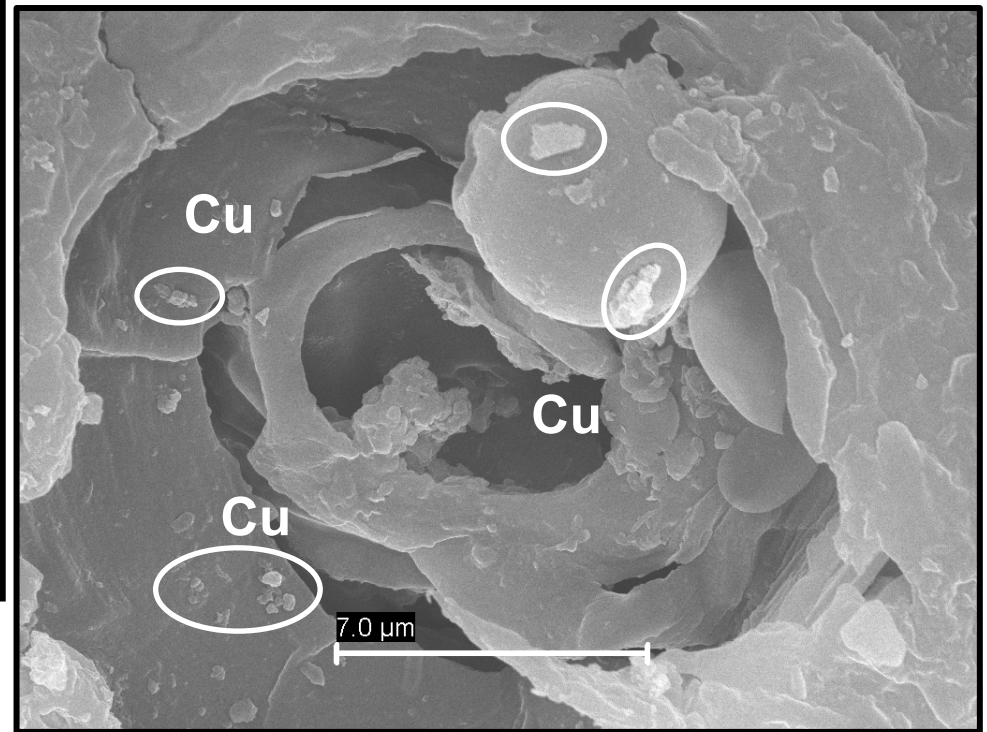


Aluminoarcillas con alta capacidad de sorción

Forma metaestable de caolinita, formadas a partir de la alteración de minerales de tipo feldespato (microclina)

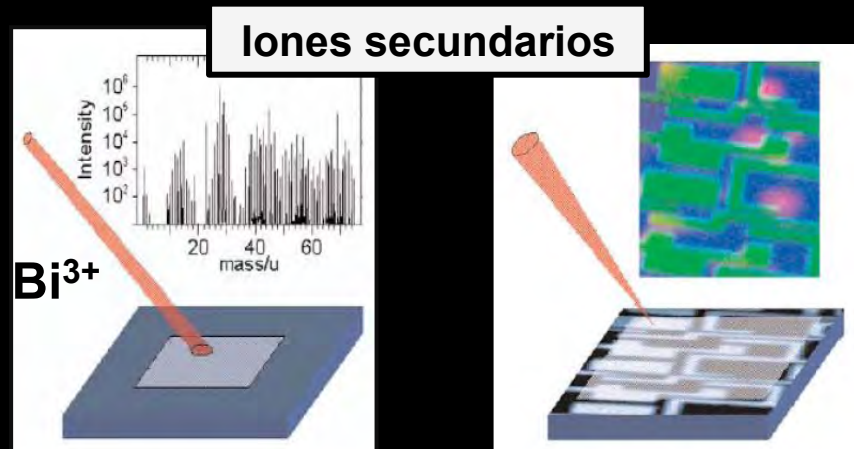
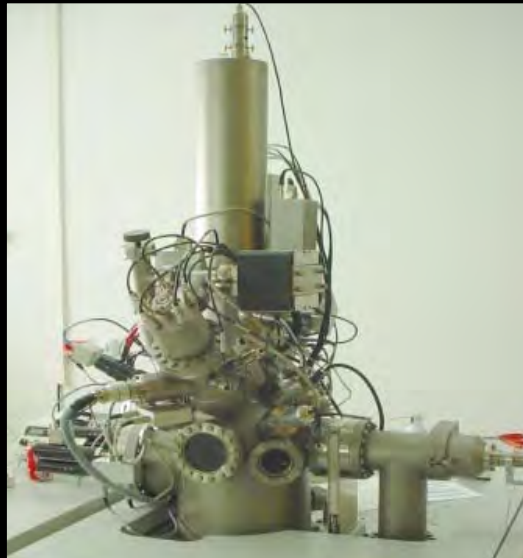


**Aluminoarcillas amorfas (Al-Si-O-Fe)
con Pb sorbido en FT.G**

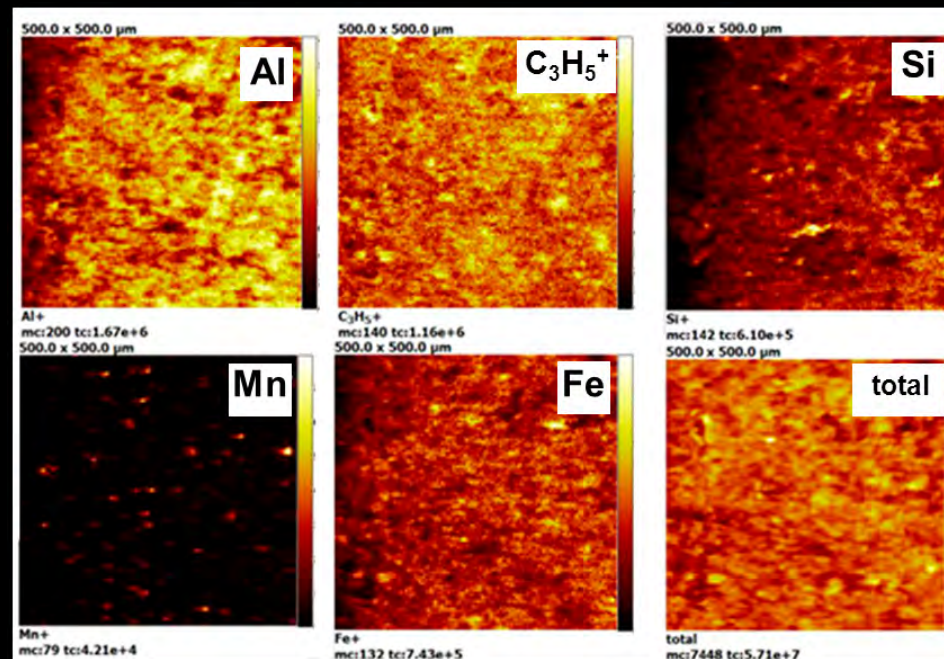


**Esfera amorfa de una aluminoarcilla y
poro con Cu sorbido en FT.G**

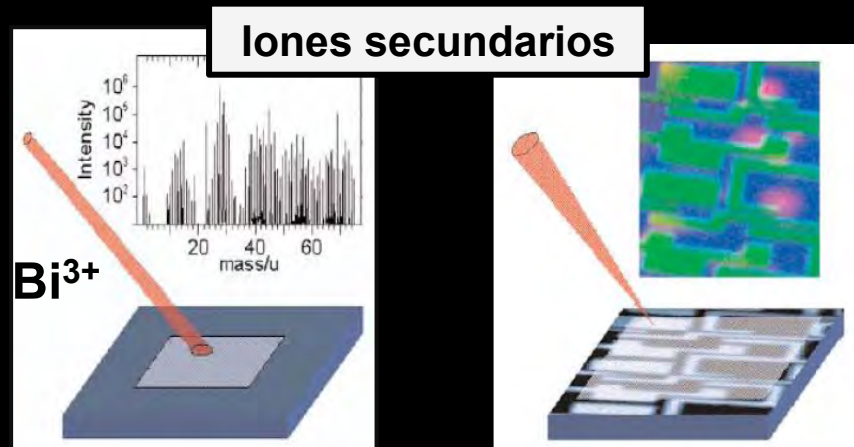
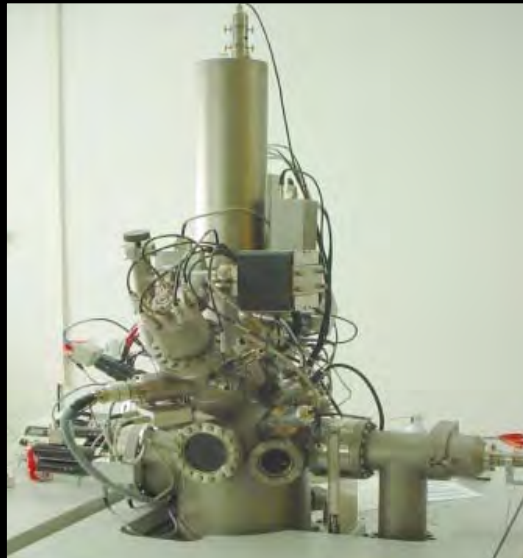
Espectrometría de masas de iones secundarios por tiempo de vuelo



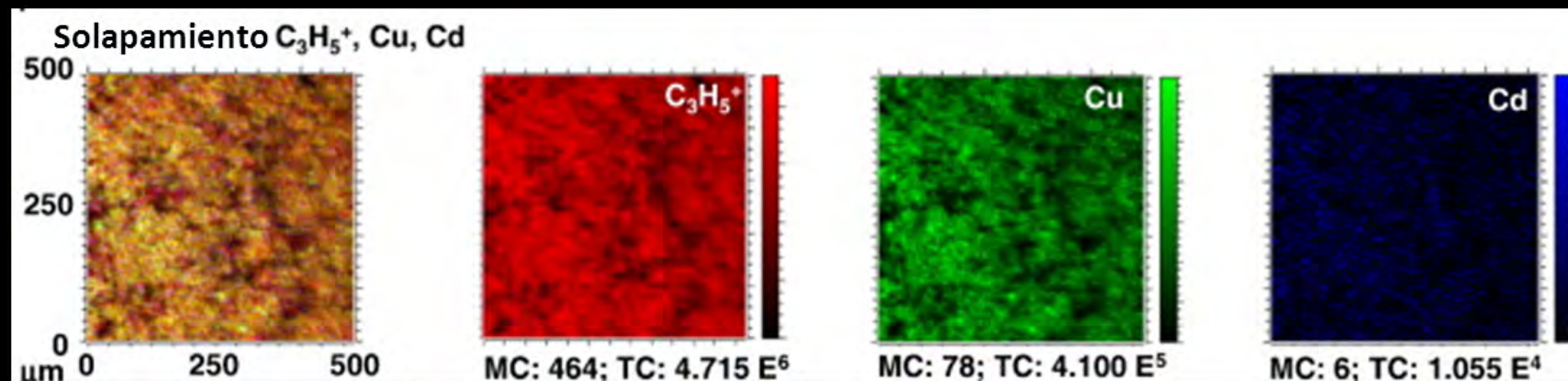
Si, Fe, Mn, Al, C_3H_5^+



Espectrometría de masas de iones secundarios por tiempo de vuelo



rojo + verde = amarillo
rojo + azul = magenta
verde + azul = cian
rojo + verde + azul = blanco

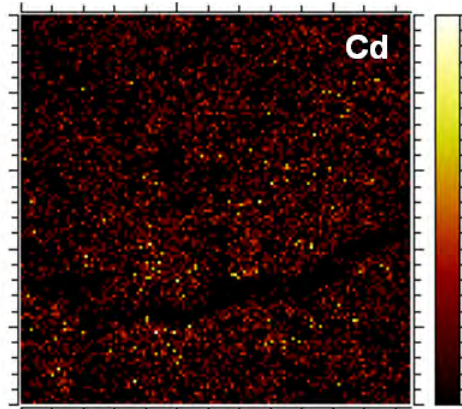


Horizonte B (Umbrisol Dístrico)

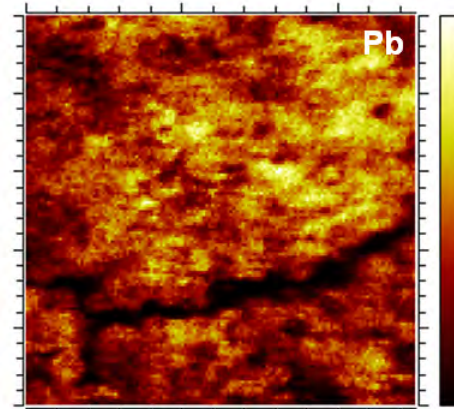
Tratado con
 Pb^{2+} y Cd^{2+}

Aumento
de señal
de Pb^{2+}

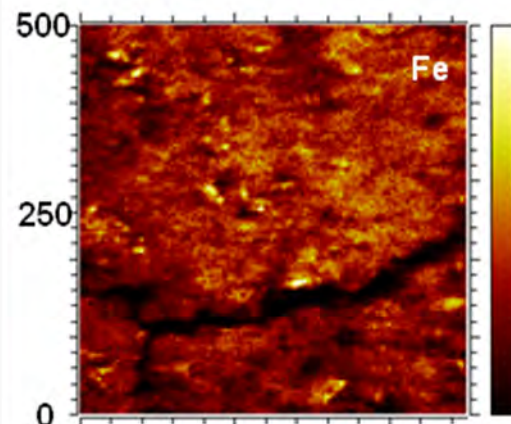
Kr,r
competitivo:
 Pb^{2+} : **0.705**
 Cd^{2+} : **0.039**



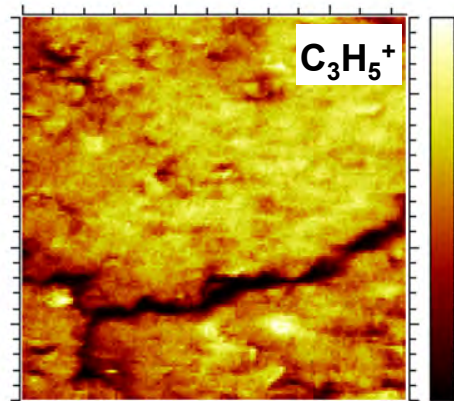
MC: 5; TC: 5.325 E^3



MC: 280; TC: 1.704 E^6



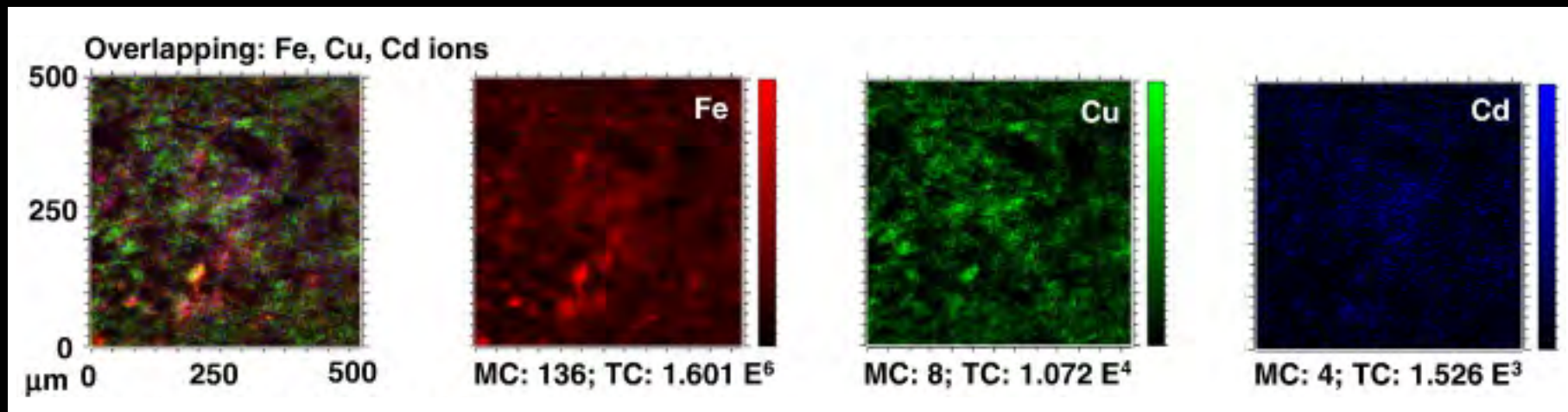
MC: 280; TC: 1.395 E^6



MC: 640; TC: 5.679 E^6

Horizonte A (Fluvisol dístrico)

Tratado con
 Cu^{2+} y Cd^{2+}



- Solapamiento de señal de Cu con la de Fe → zonas amarillas
- Solapamiento de señal de Cu con la de Cd → zonas magenta

rojo + verde = amarillo
rojo + azul = magenta
verde + azul = cian
rojo + verde + azul = blanco





SUELOS NATURALES

- Bajos niveles de materia orgánica
- Alta pedregosidad
- Bajo espesor
- Pérdida de estructura
- Escasez de nutrientes

SUELOS DEGRADADOS

- Ambiente hiperácido
- Alto contenido de metales y otros PHEs
- Alta movilidad de metales y otros PHEs
- Crecimiento de plantas limitado

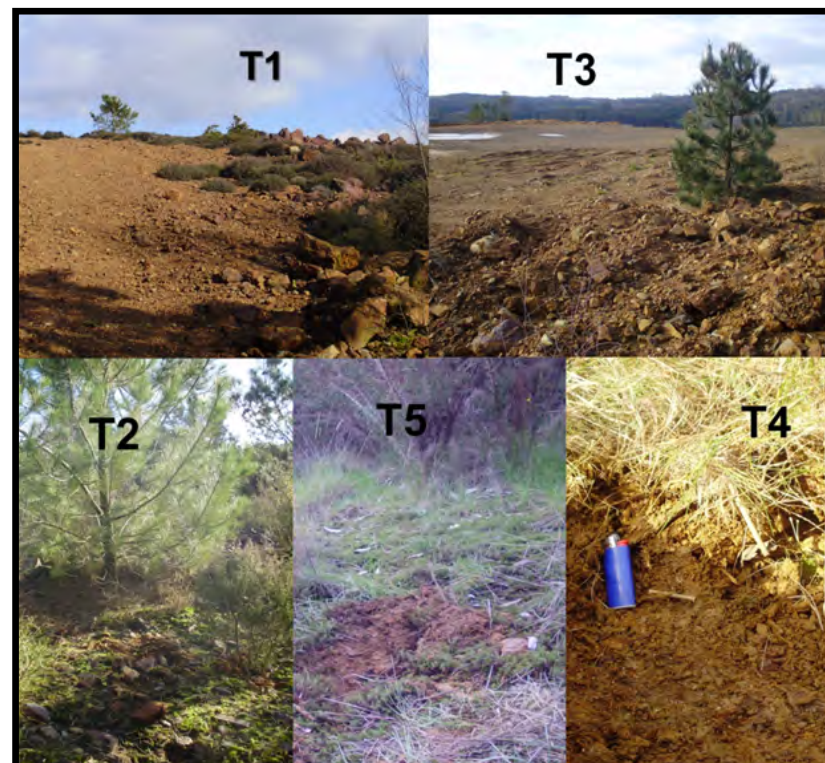
Mina de Touro



T1, T2, T3 → Escombreras

T4 → Zona de acumulación de partículas finas procedentes de la balsa de decantación

T5 → Balsa de decantación



Contenidos pseudototales (mg kg⁻¹)

Cu → 104 - 2924

Cr → 78 - 180

Ni → 20 - 50

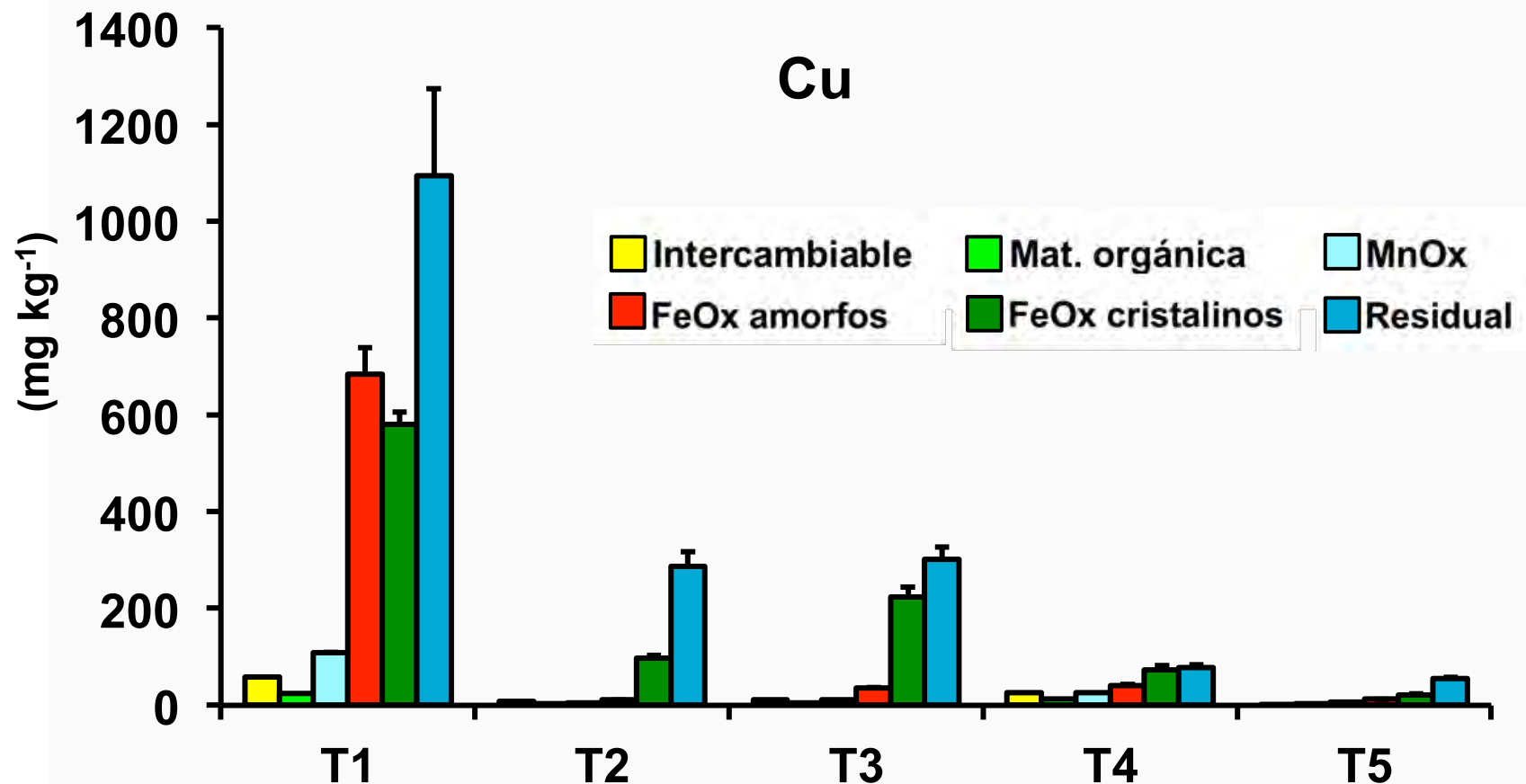
Pb → 12 - 24

Zn → 71 - 109

Total de Cu supera los límites de intervención ICRCL (1987) y Macías y Calvo (2009)

Mina de Touro

Extracción química secuencial (Shuman 1979, 1985)



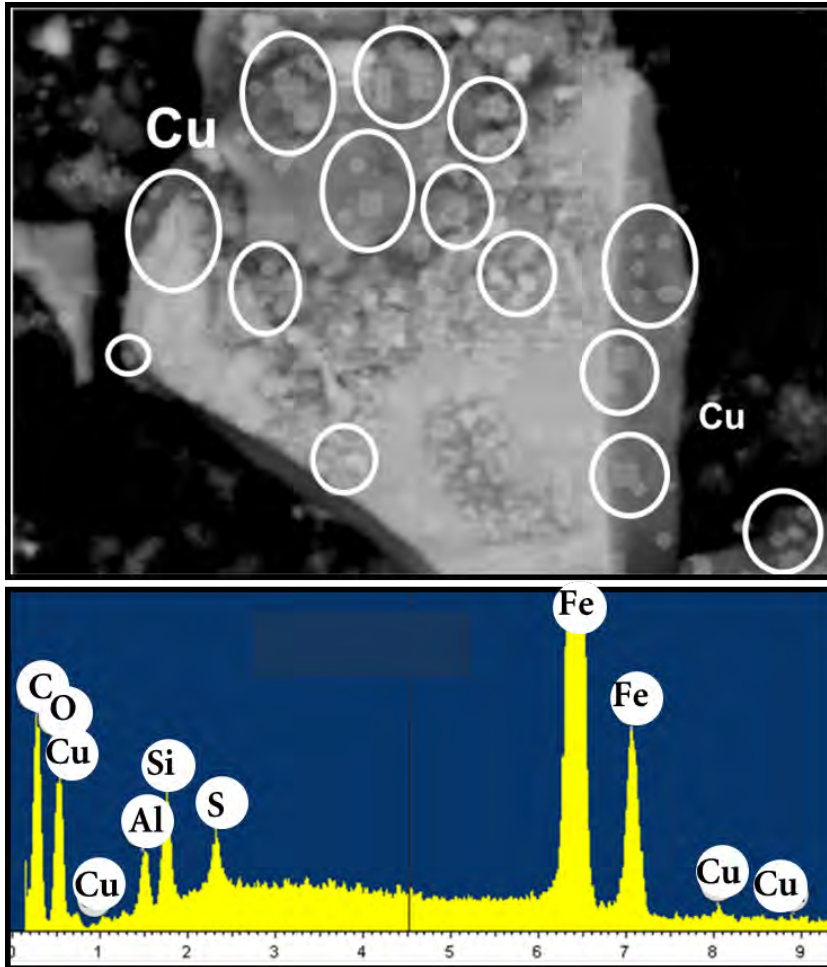
Fracción residual → Mayor cantidad de metal asociado

Alto contenido de Cu asociado a OxFe amorfos y cristalinos

Materia orgánica y la fracción intercambiable → < 10% del total de los metales

Mina de Touro

Suelo T1:



Cu asociado con OxFe

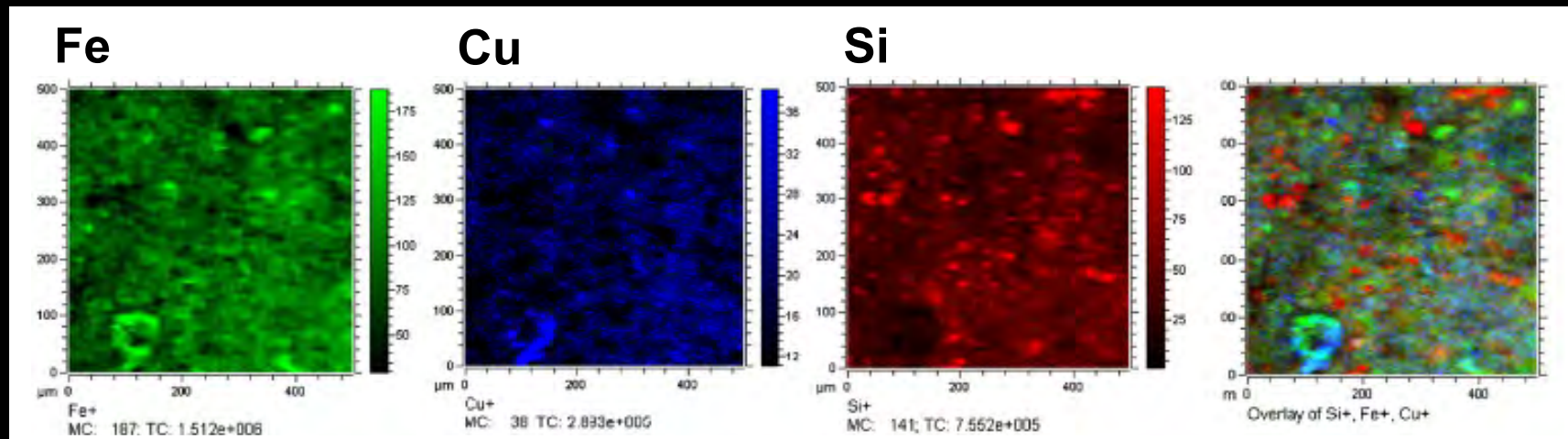
Suelo T5:



Interacción de cristales de jarosita con hidroxipolimeros amorfos de Al-Cu-Cr-Pb

Mina de Touro

Suelo T1:

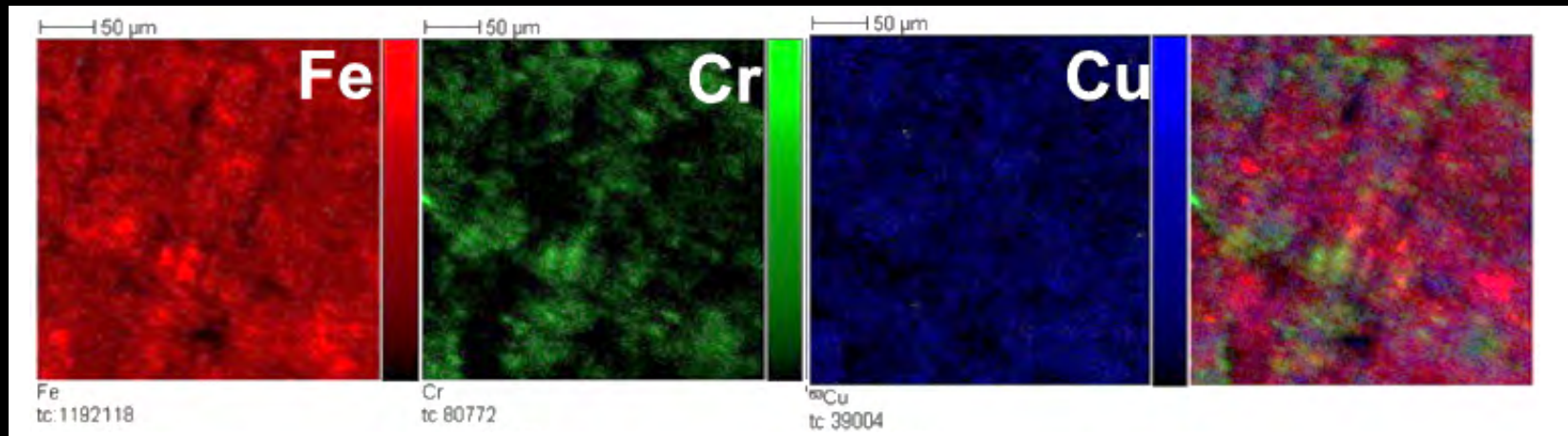


- Solapamiento de señal de Cu con la de Fe → zonas cian

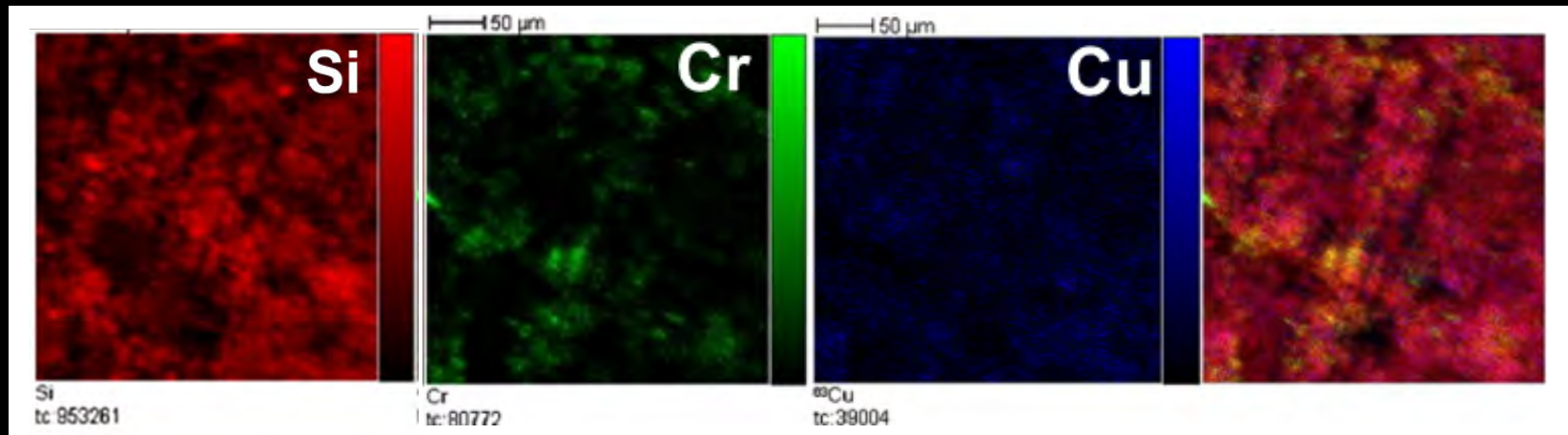
rojo + verde = amarillo
rojo + azul = magenta
verde + azul = cian
rojo + verde + azul = blanco

Suelo T5:

Mina de Touro

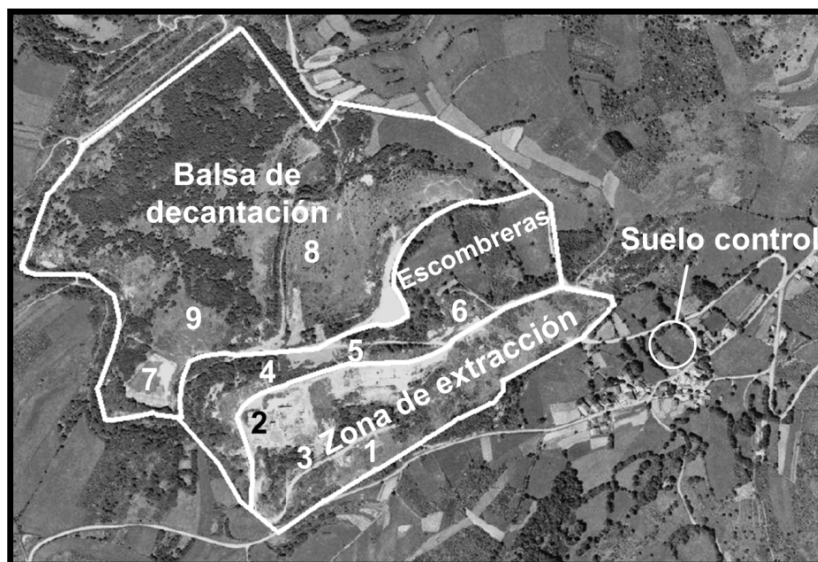


- Solapamiento de señal de Cu con la de Fe → zonas magenta
- No hay solapamiento de señal de Cr con las de Fe



- Solapamiento de las señales de Cu con las de Si → zonas magenta
- Solapamiento de las señales de Cr y con las de Si → zonas

Mina de Rubiais



R1, R2, R3 → Zona de extracción

R4, R5, R6 → Escombreras

R7, R8, R9 → Balsa de decantación

RC → Suelo control



Contenidos pseudototales
(mg kg⁻¹)

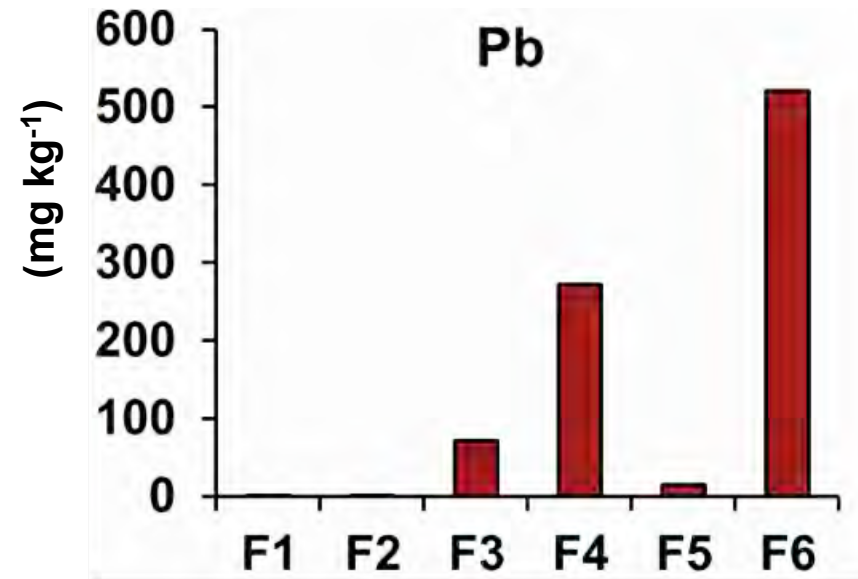
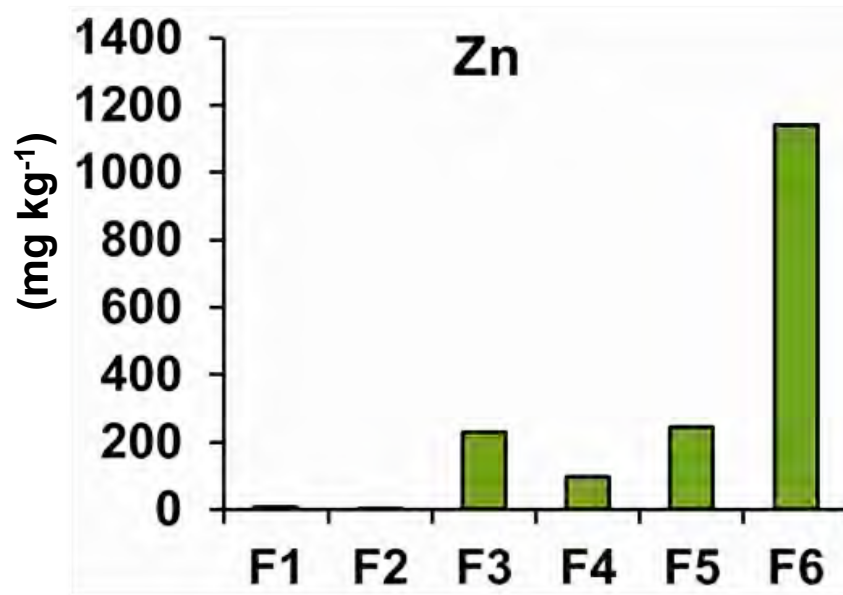


Pb → 850 - 6761 - Zn → 1754 - 32287 - Cd → 2 - 44

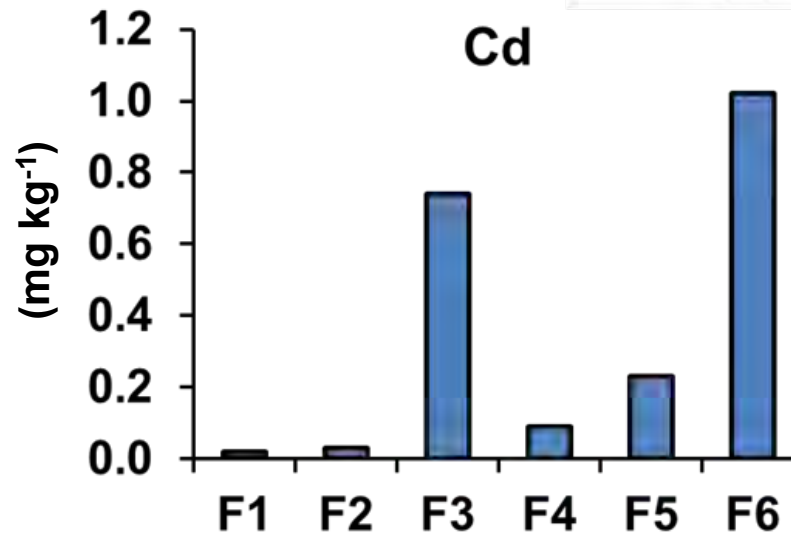
Pb, Zn y Cd superan los límites de intervención ICRCL (1987) y Macías y Calvo (2009)

Mina de Rubiais

Extracción química secuencial (Shuman 1979, 1985)



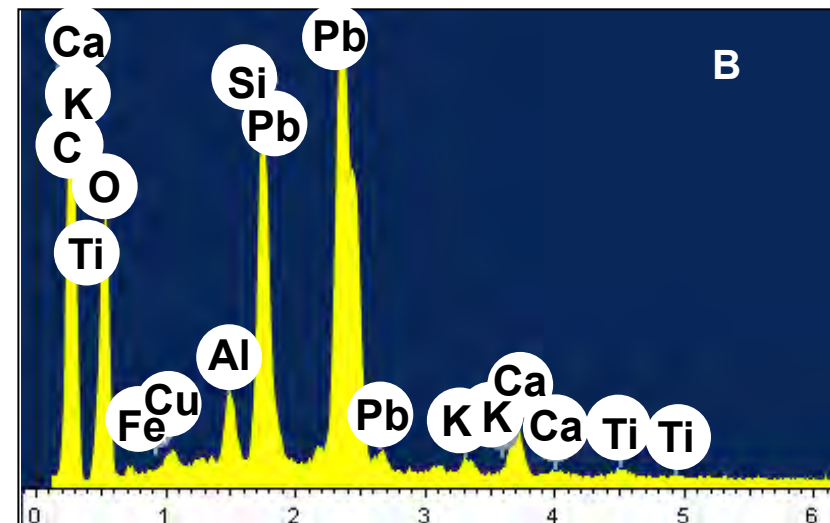
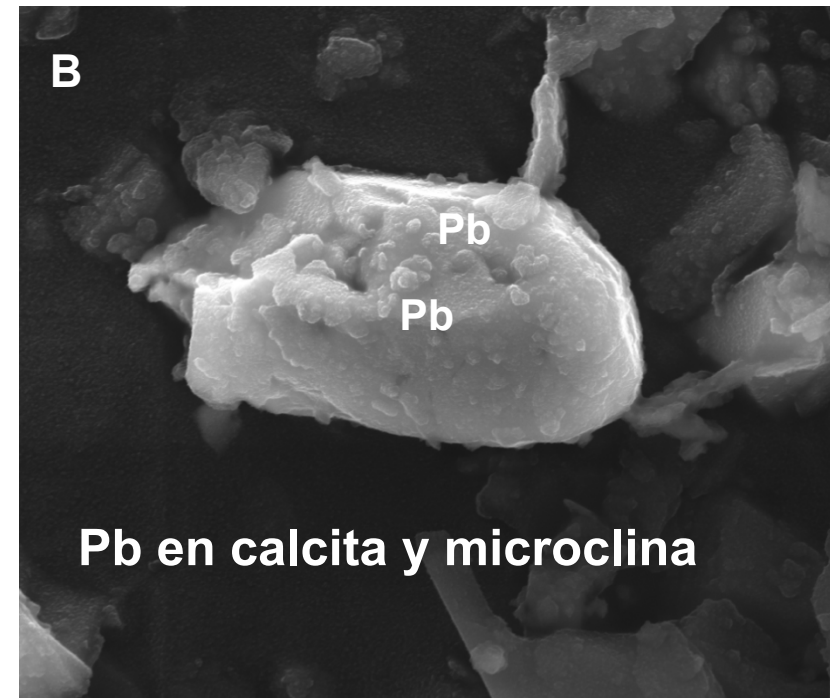
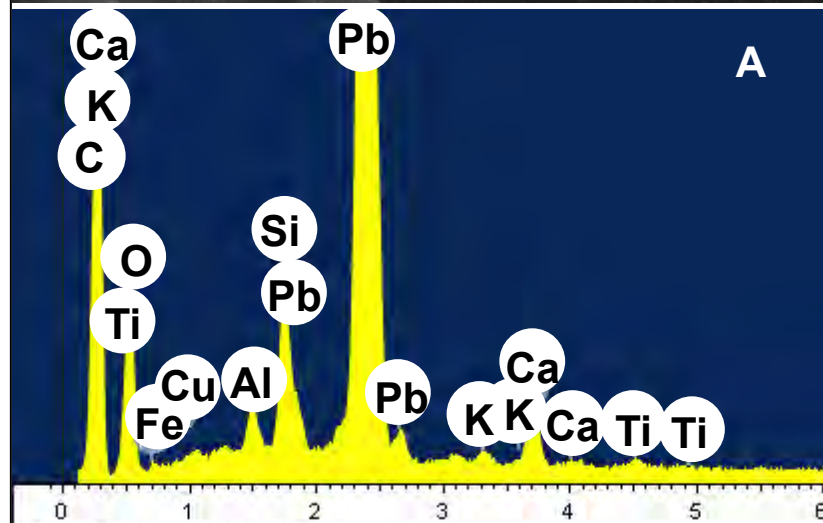
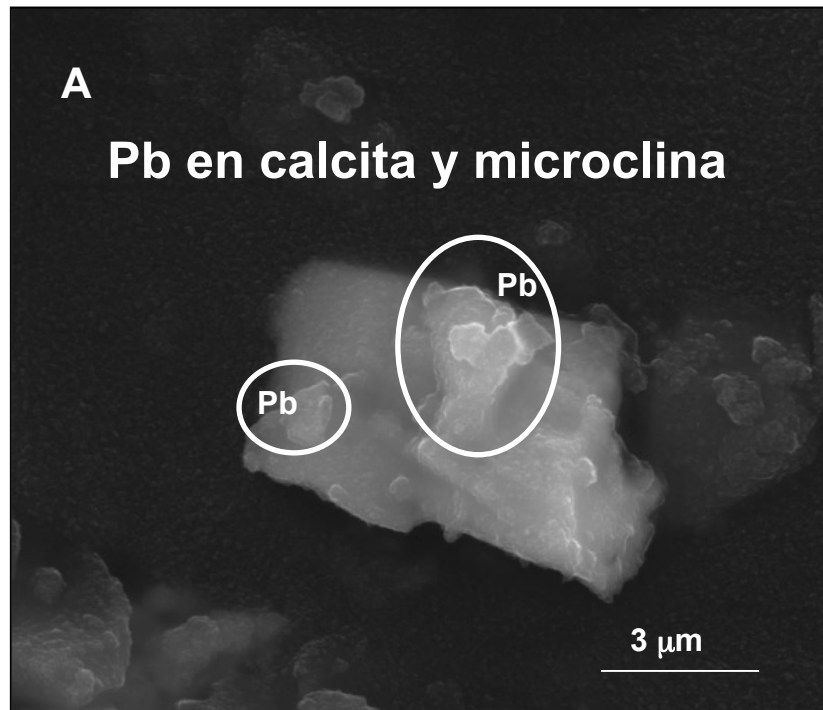
F1: Intercambiable
F2: Mat. Orgánica
F3: MnOx
F4: FeOx amorfos
F5: FeOx cristalinos
F6: Residual



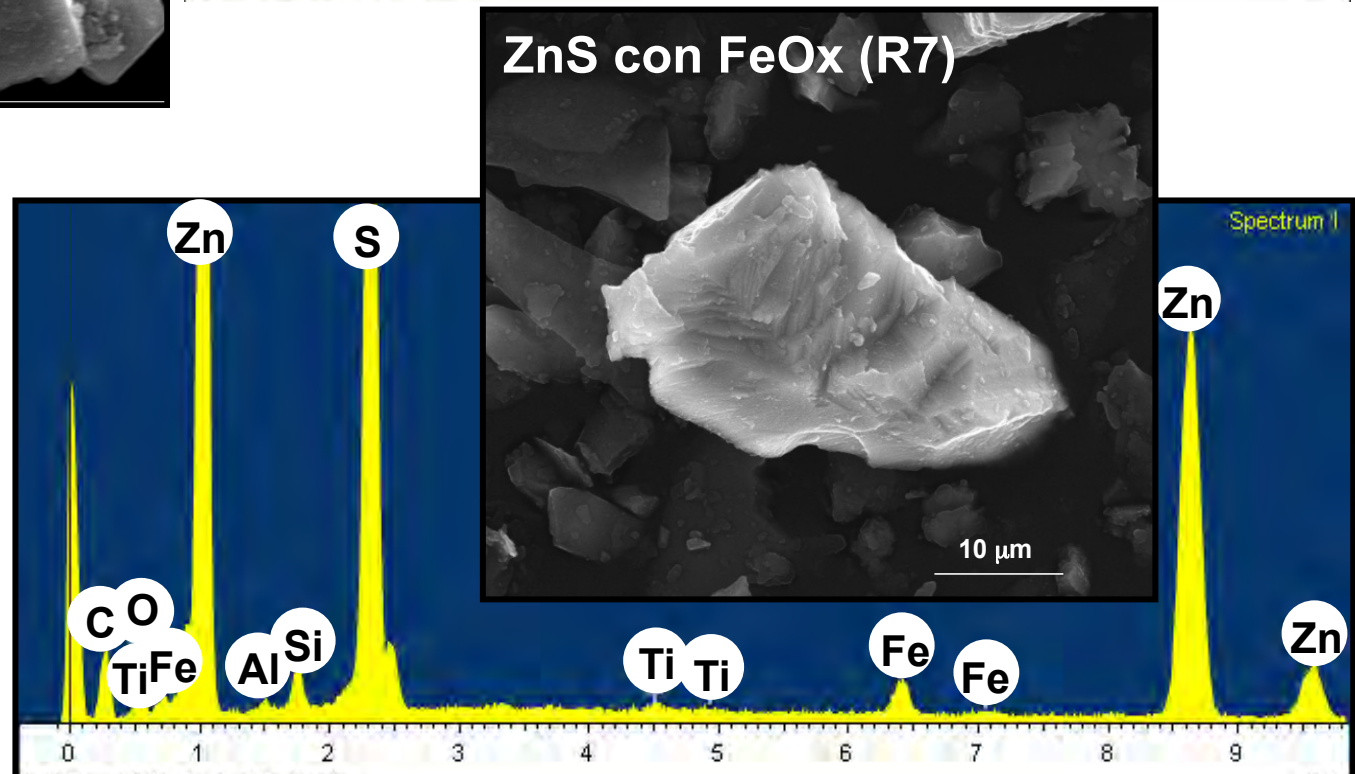
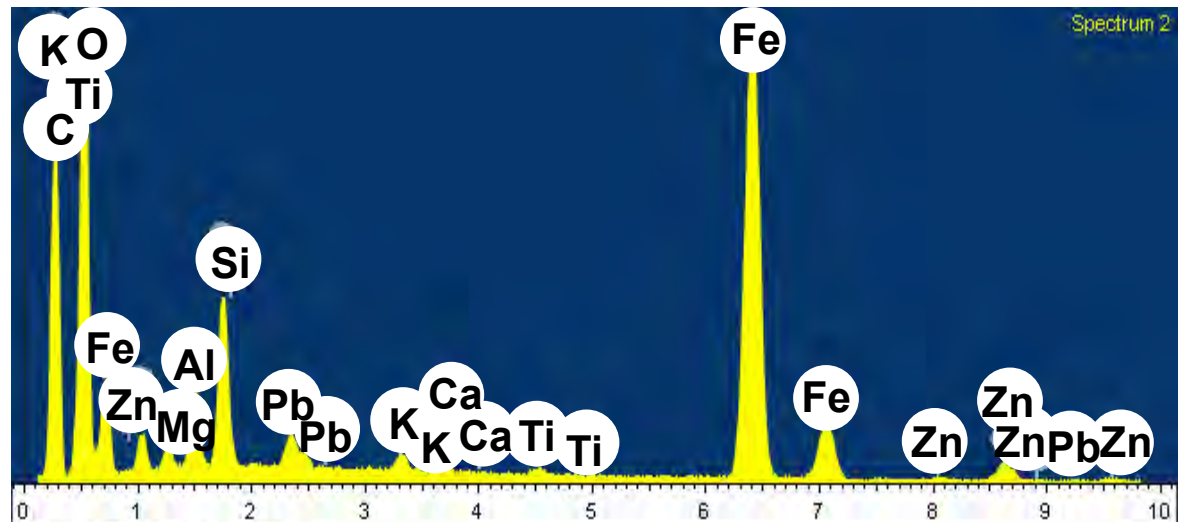
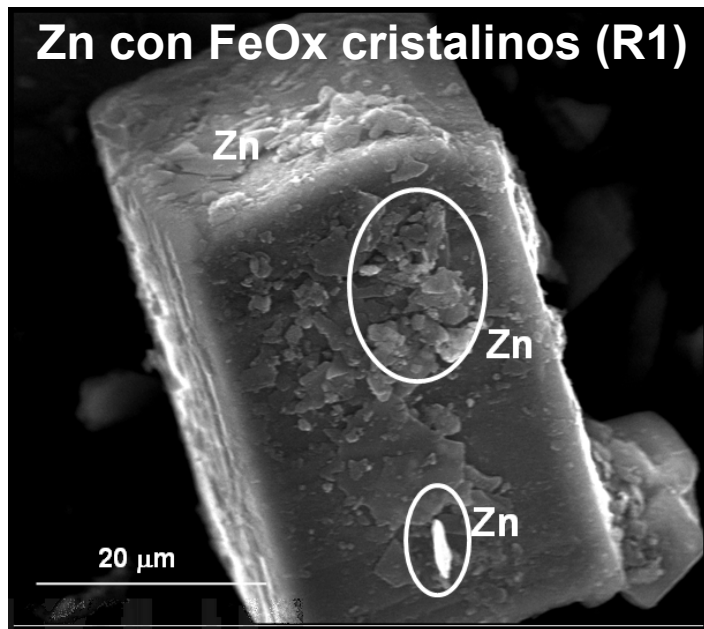
Altos contenidos de
Pb, Zn y Cd
asociados a
FeOx y MnOx

Fracción residual → Mayor cantidad de Cd, Zn y Pb

Mina de Rubiais



Mina de Rubiais



Cantera de Penas Albas



M1 → Escombrera
M2 → Escombrera
M3 → Zona de extracción
M4 → Límite de la cantera

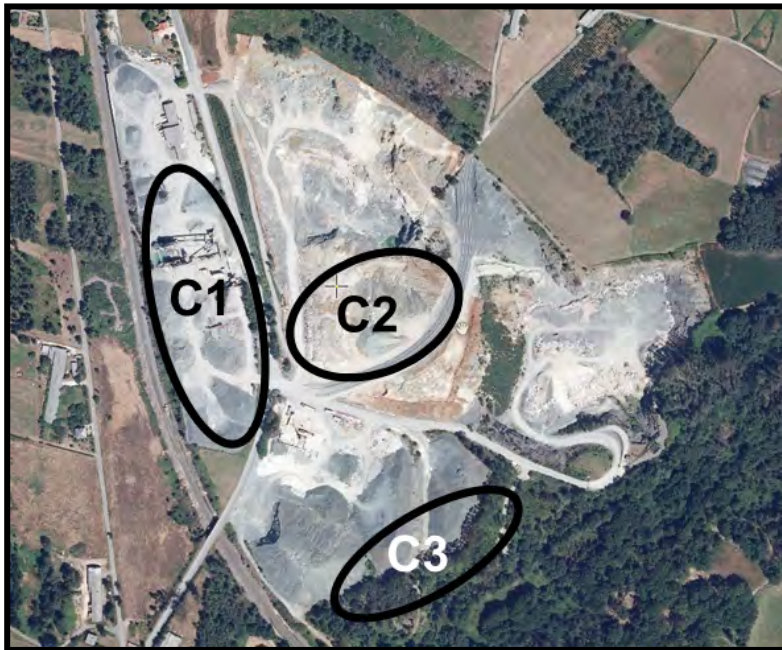
**Contenidos
pseudototales
(mg kg⁻¹)**

Co → 76 -147
Cr → 1472 - 2689
Ni → 1470 - 2039
V → 21 - 68

Exceden los límites
de intervención
indicados en
diferentes guías
(VROM, 2000; RIVM,
2001; DEFRA &
Environmental
Agency, 2006)



Cantera de Campomarzo



**Contenidos
pseudototales
(mg kg⁻¹)**

Co → 190 - 373
Cr → 4956 - 7132
Ni → 1809 - 4309
V → 73 - 140



Exceden los límites
de intervención
indicados en
diferentes guías
(VROM, 2000; RIVM,
2001; DEFRA &
Environmental
Agency, 2006)

C1 → Escombrera C2 → Zona de extracción
C3 → Límite de la cantera

Fraccionamiento

Tessier (1979) con modificaciones (Almas et al. 2000)

F1. Soluble

F2. Intercambiable

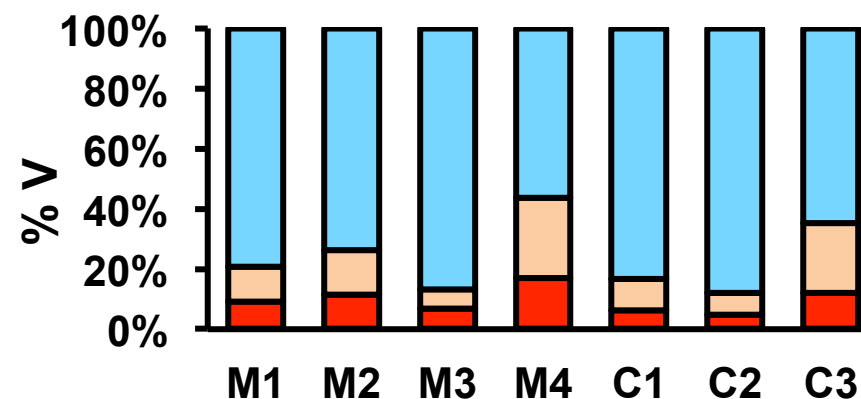
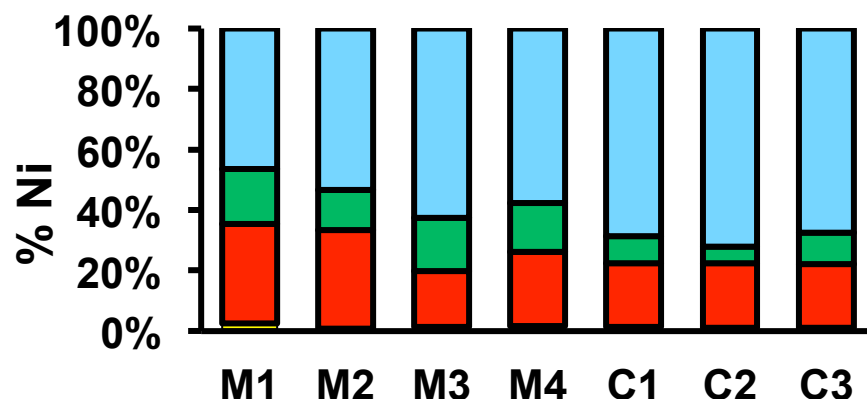
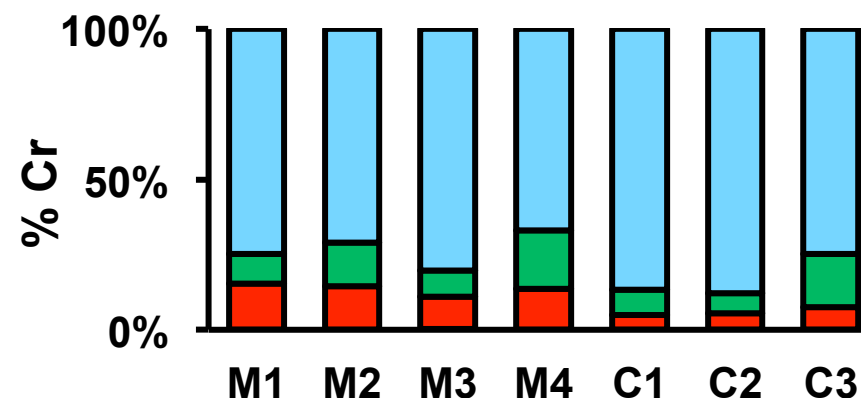
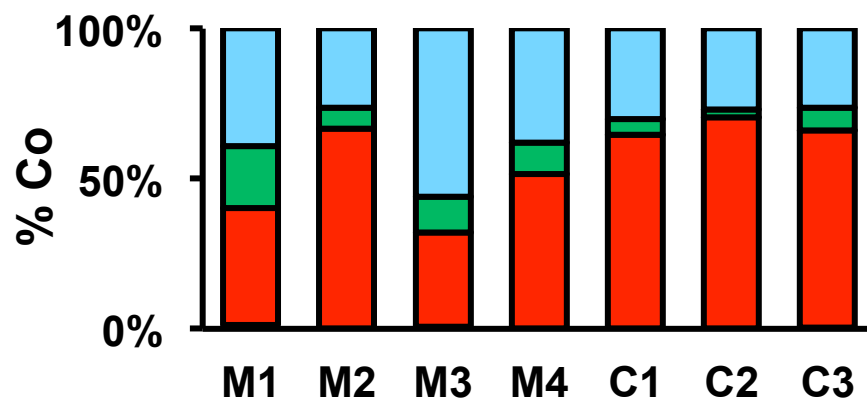
F3. Específicamente sorbido



F4. Asociado a óxidos

F5. Asociado a materia orgánica

F6. Irreversiblemente sorbido

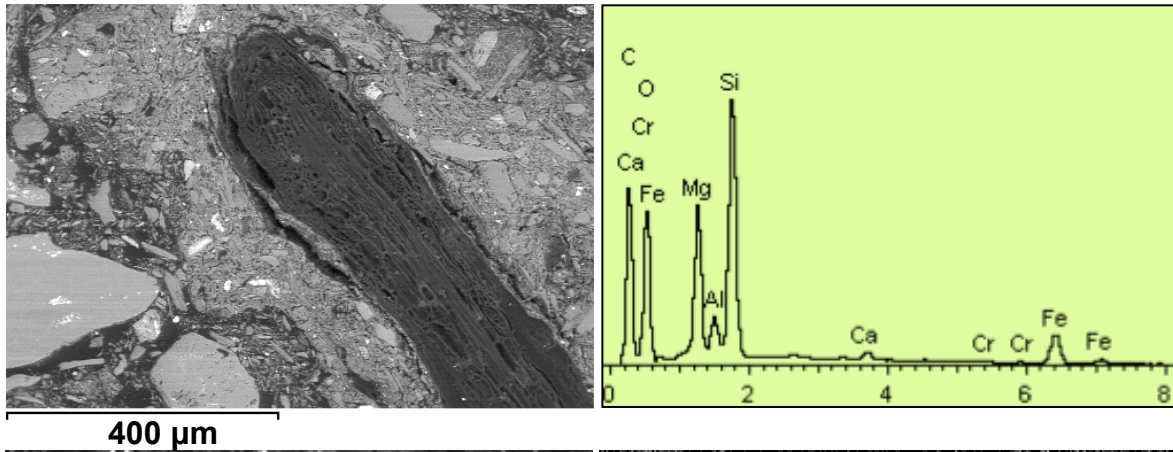


Co → asociado a FeOx y MnOx (F4)

Cr, Ni, V → Fijados irreversiblemente en minerales primarios (F6)

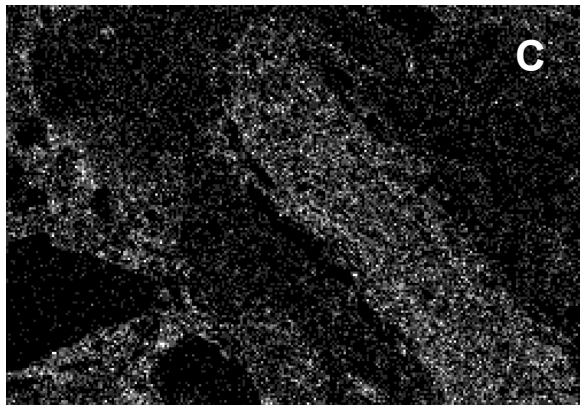
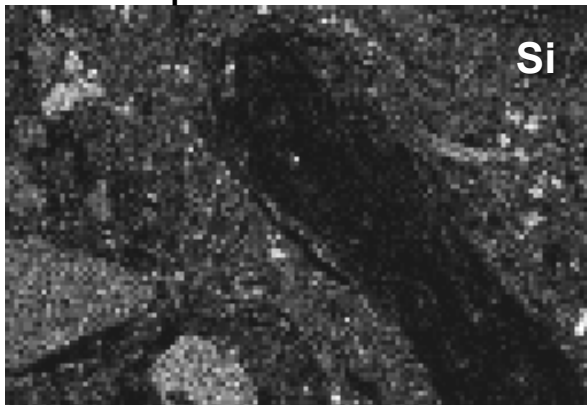
Fracciones más disponibles (F1, F2 y F3) → Son muy bajas

Cantera de Penas Albas

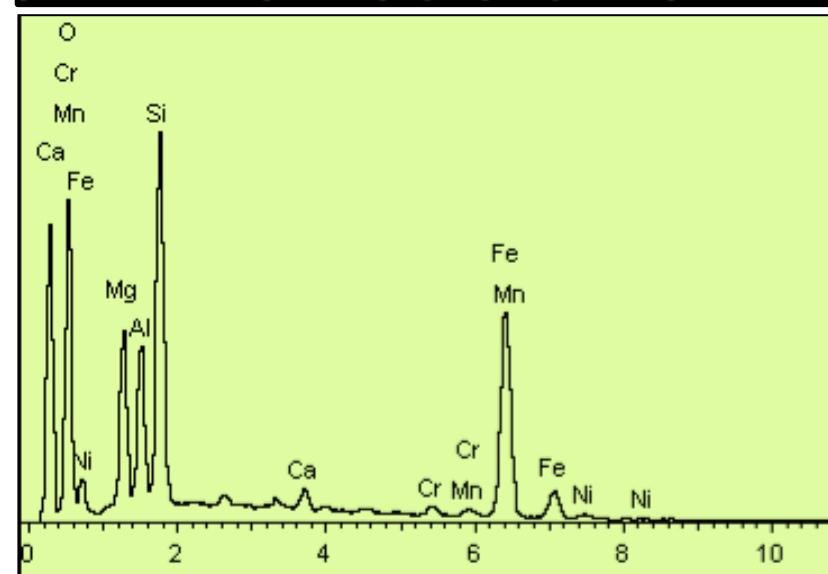
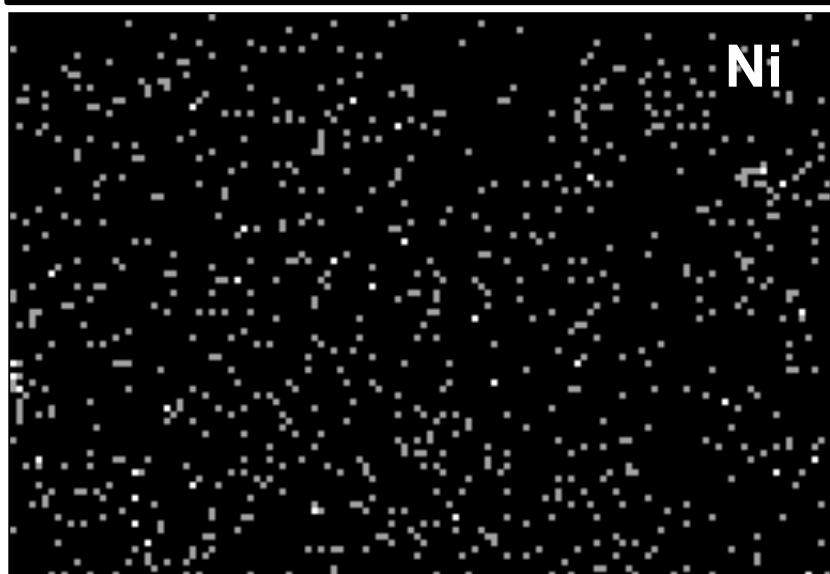
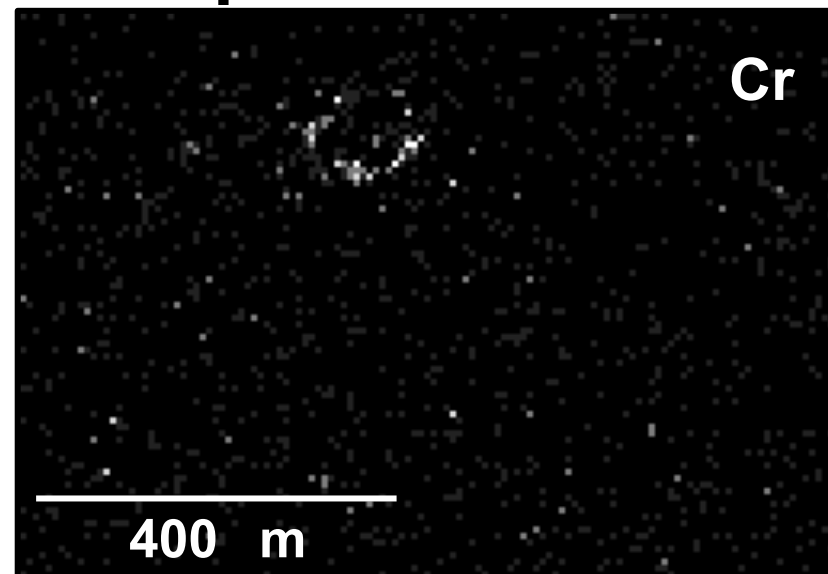
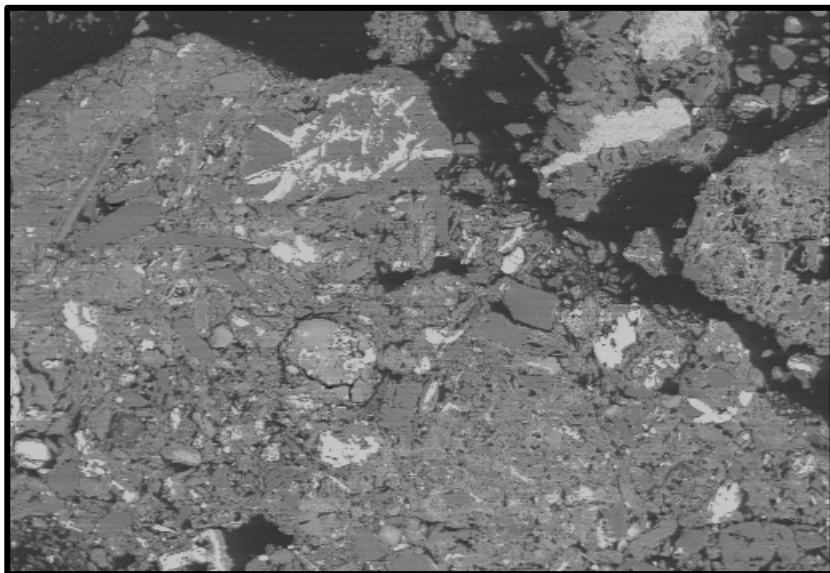


Cr asociado a:

- Silicatos magnésicos (antigorita, crisotilo, clinocloro, talco y tremolita)
- Óxidos de Fe



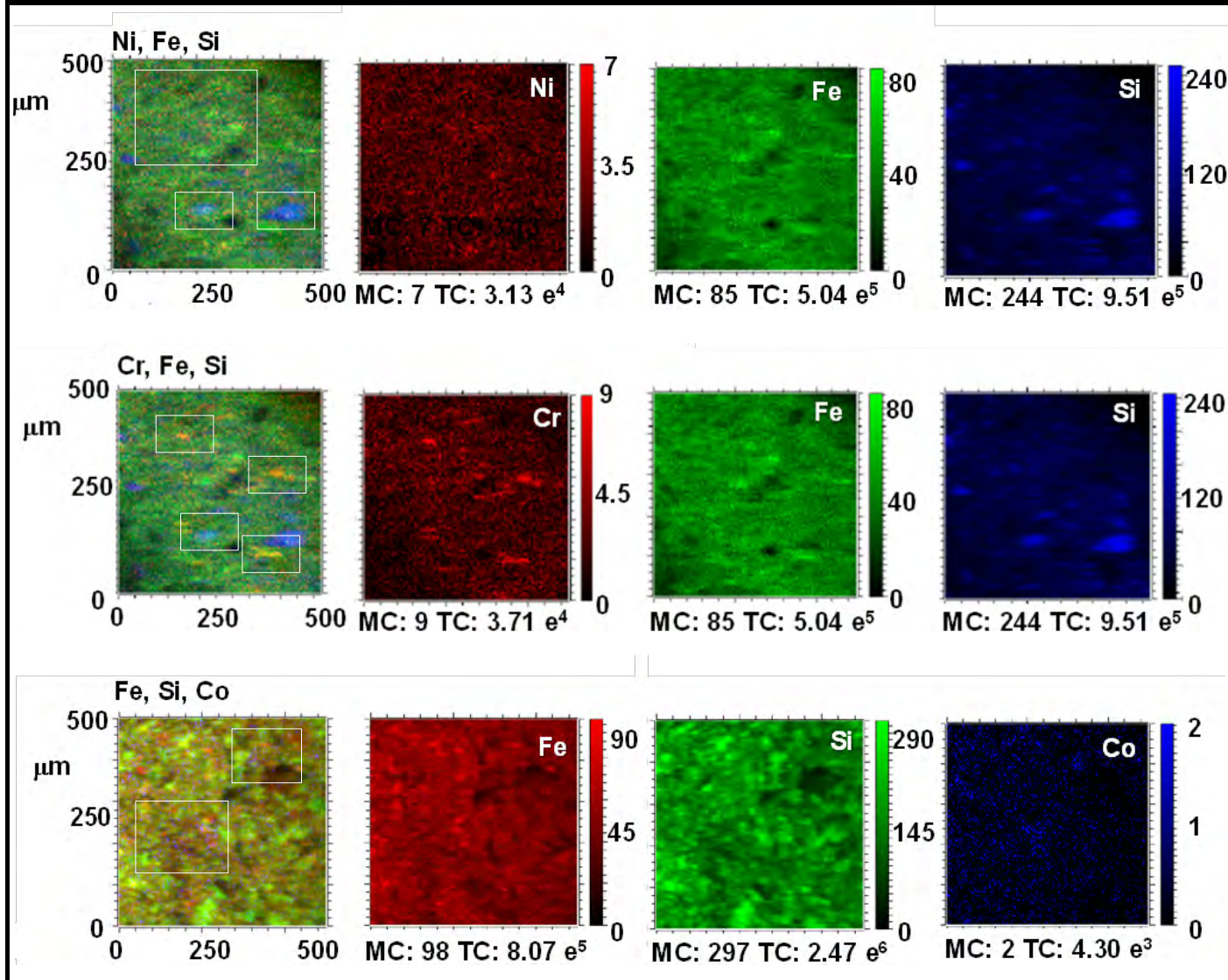
Cantera de Campomarzo



Ni y Cr asociados a silicatos magnésicos, FeOx y MnOx

Cantera de Penas Albas

Suelo M2



Ni asociado a FeOx

Ni en minerales
primarios con Fe

SiO₂

Cr asociado a FeOx

Cr en minerales
primarios con Fe

Co asociado a FeOx



Faja Pirítica Ibérica



Minas abandonadas de
São Domingos y Lousal



Vegetación

Escombreras Residuos de mina:
Gossans, cenizas, roca

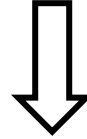
Cistus monspeliensis L.

Mina de Lousal

Mina de São Domingos



**Semillas de *C. monspeliensis* de
São Domingos**



**20 macetas con 2 kg de suelo
arenoso (Fonte da Telha, Lisboa)**

Disolución nutritiva (90 días)

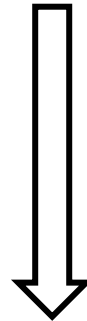


10 individuos por maceta



**pH: 6.52
MO: 2.05 mg kg⁻¹**

*Disolución nutritiva (30 días)
+ tratamiento $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$:
0 (Zn0), 500 (Zn500), 1000 (Zn1000),
1500 (Zn1500) or 2000 (Zn2000) μM
(45 días)*



**Análisis químicos y
fisiológicos**

- **Altura** de las plantas y la **biomasa** seca de las raíces y la parte aérea

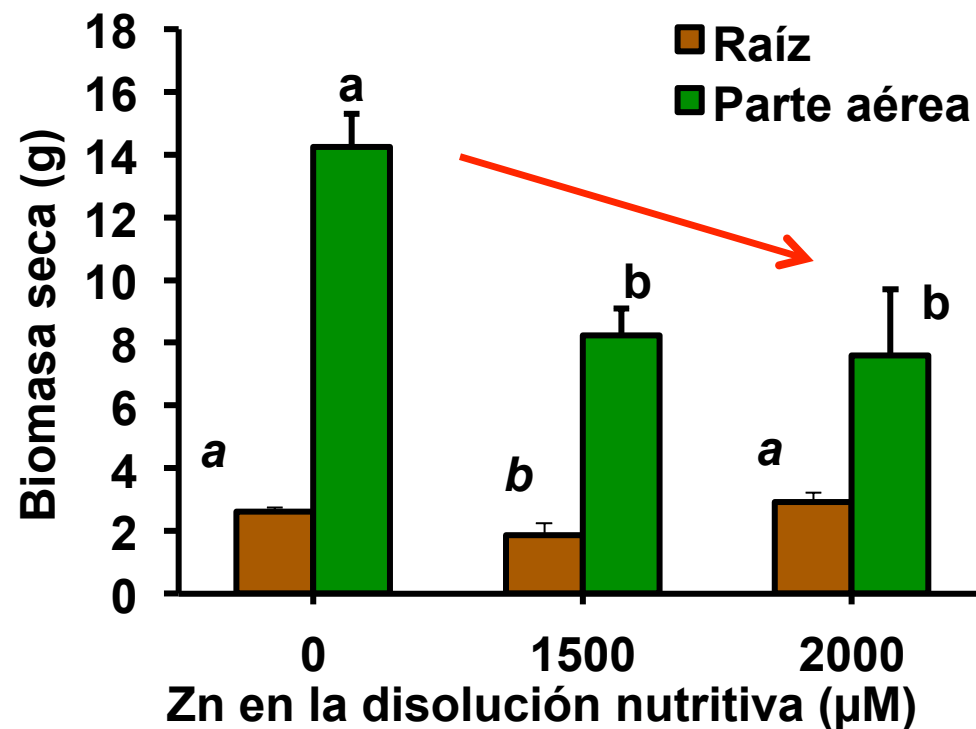
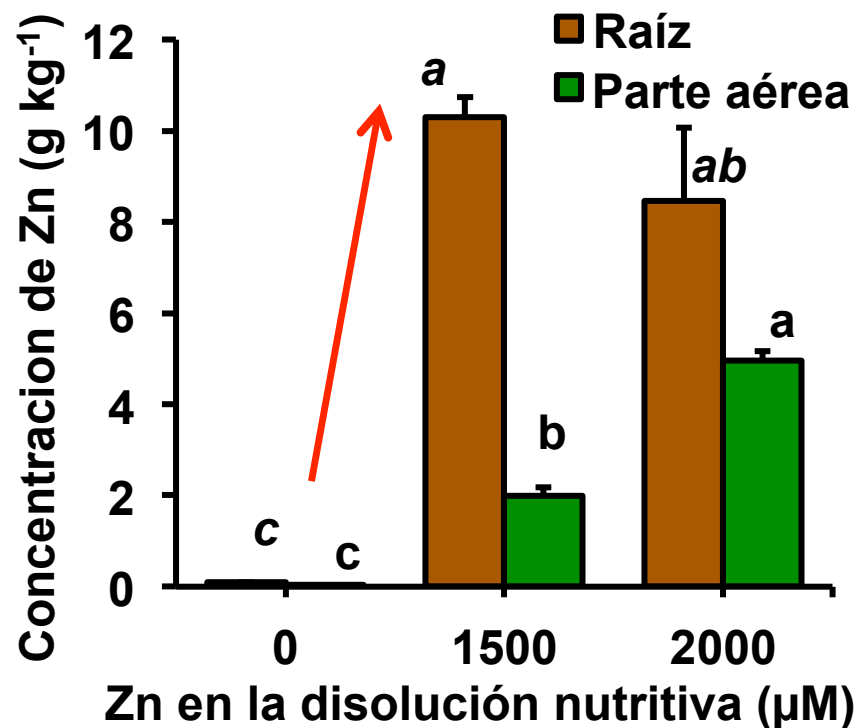
Parte aérea y raíces:

- **Concentración de Zn**
- **Concentración de nutrientes** (K, Mg, Ca, Fe, Mn, Cu, N y P)

Parte aérea:

- **Peróxido de hidrógeno** (H_2O_2)
- **Pigmentos** (clorofilas, antocianinas y carotenoides)
- **Antioxidantes** (glutación y ascorbato)
- **Actividades de enzimas antioxidantes**
 - Superóxido dismutasa (SOD)
 - Catalasa (CAT)
 - Ascorbato Peroxidasa (APX)
 - Deshidroascorbato reductasa (DHAR)
 - Monodeshidroascorbato reductasa (MDHAR)
 - Glutación reductasa (GR)





Coeficiente translocación:

Zn2000 $\rightarrow$ 0.6

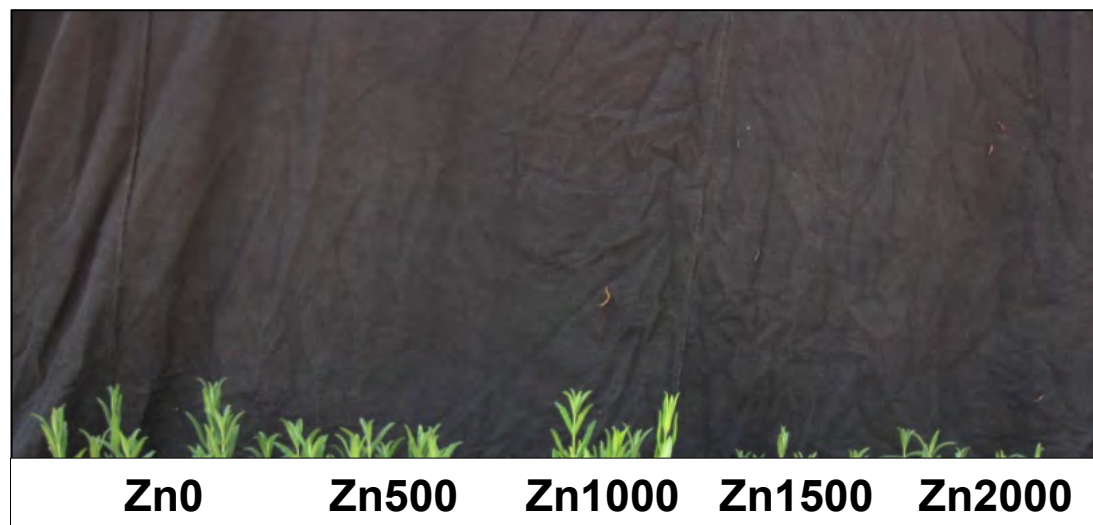
Zn (0-1500) $\rightarrow$ < 0.3

Ratio biomasa R/PA:

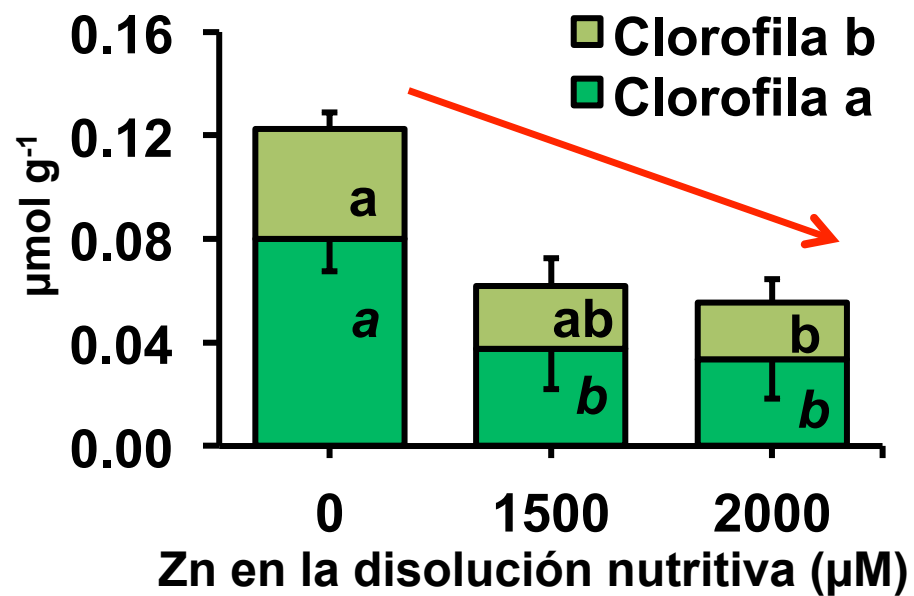
Zn2000 $\rightarrow$ 0.38

Zn1500 $\rightarrow$ 0.22

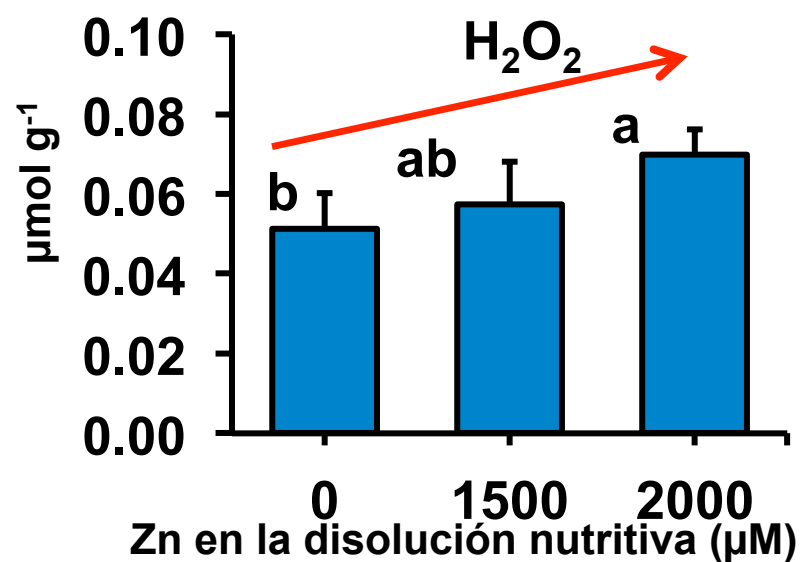
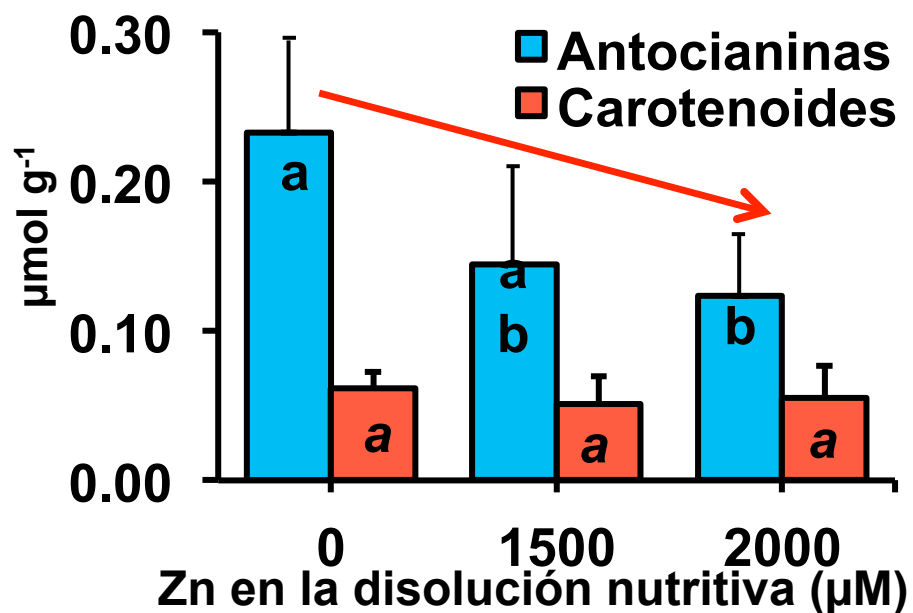
Zn control $\rightarrow$ 0.18

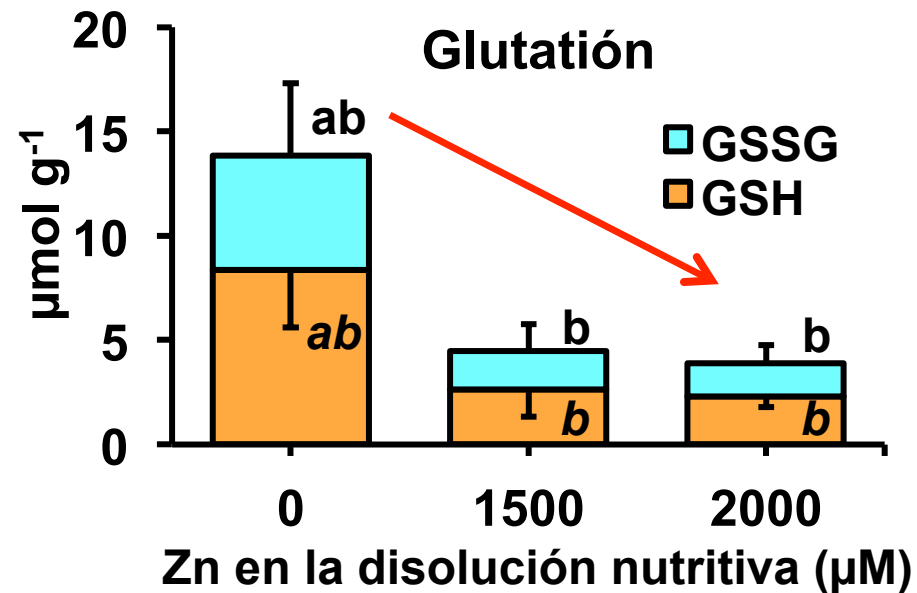
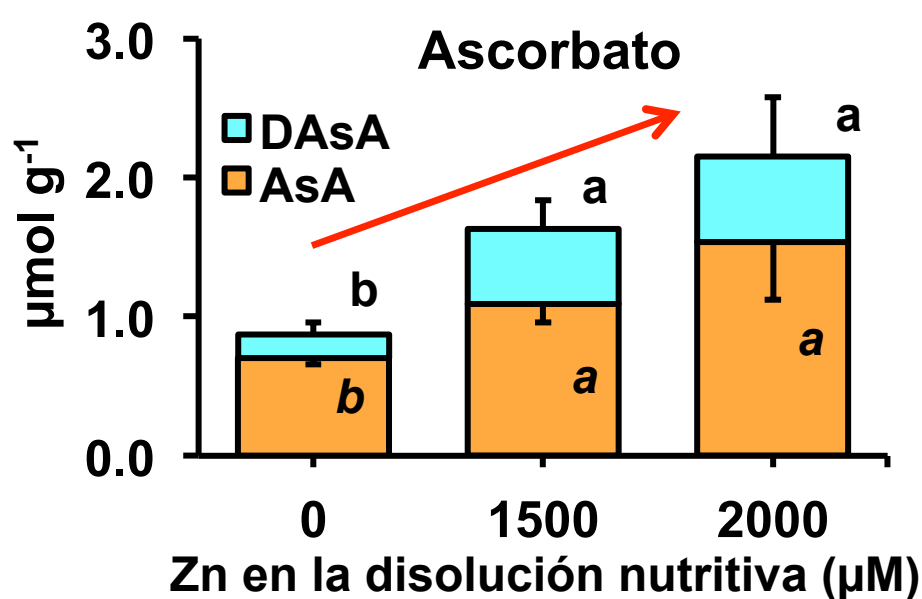


Plantas con los distintos tratamientos con Zn



Síntomas de toxicidad de Zn con Zn2000



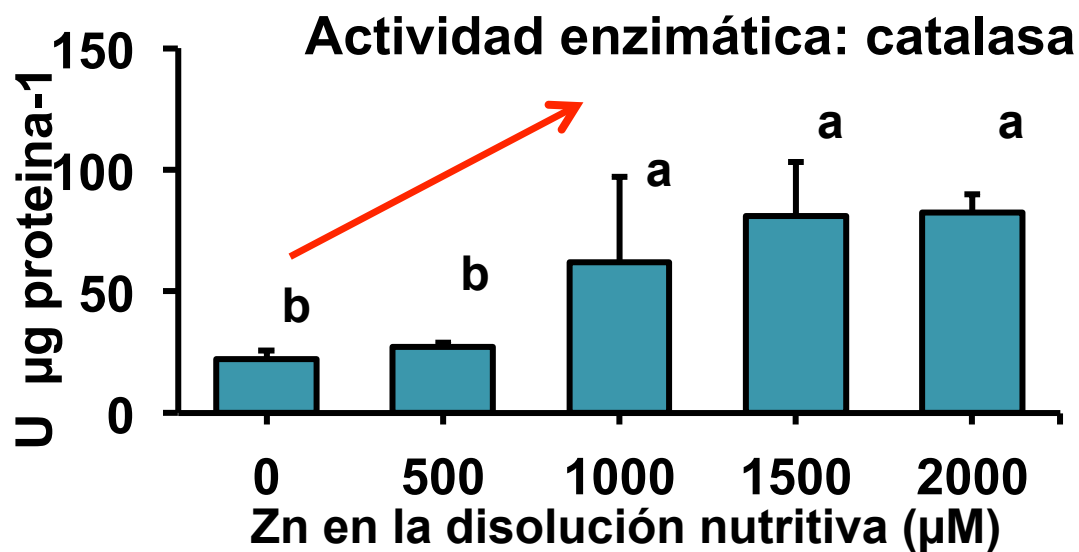


Medida del estado redox



Relación: reducido / total

AsA: 81 % - 72 %
GSH: 60 % - 59%



Concentración de H_2O_2



Actividad enzimática

Suelos y *C. monspeliensis*

- Mina de São Domingos
- Mina del Lousal
- Pomarão (referencia)

- Caracterización de los suelos
- Concentración total y disponible de metal(oid)es en los suelos
- Concentración de metal(oid)es en (parte aérea y raíces)

Parte aérea (*Análisis fisiológicos*):

- Peróxido de hidrógeno (H_2O_2)
- Pigmentos (clorofilas, antocianinas y carotenoides)
- Antioxidantes (glutación y ascorbato)
- Actividades de enzimas antioxidantes



Lousal



Pomarão

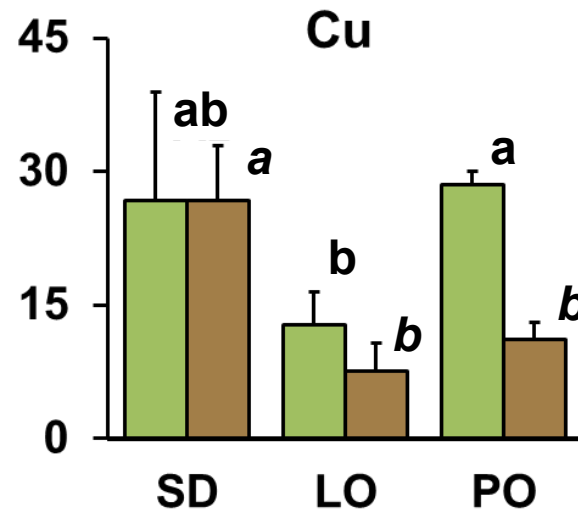
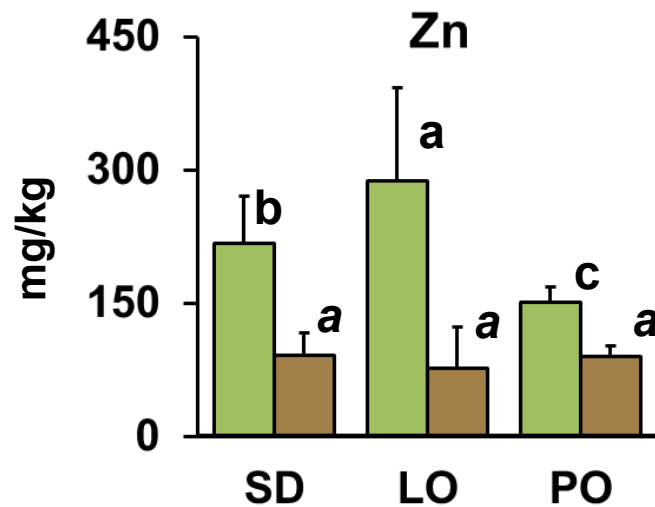
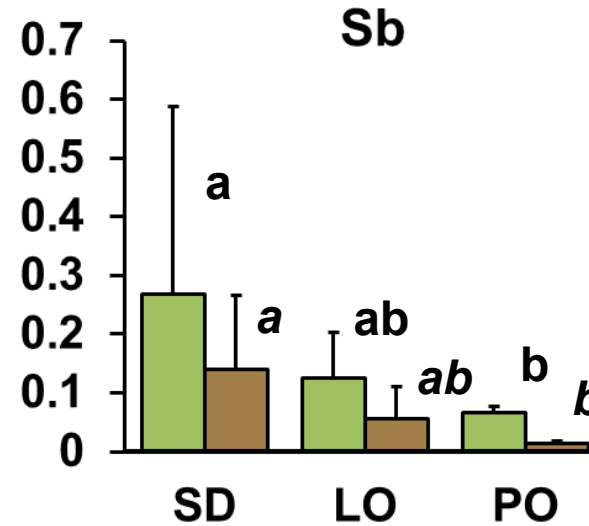
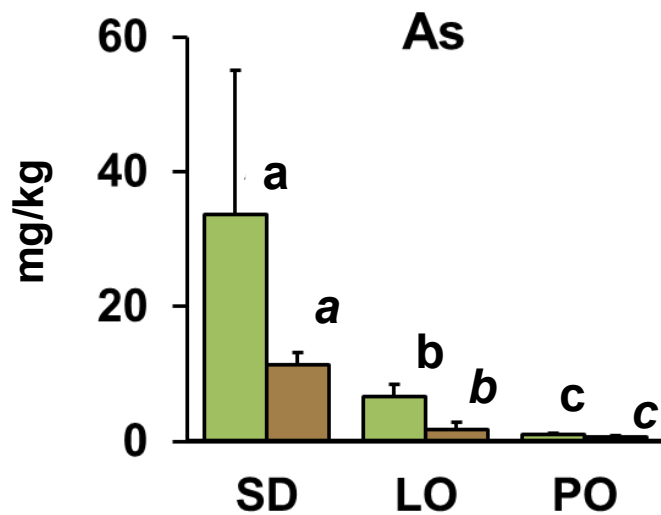
- Contenido **total** y **disponible** de metales y otros elementos potencialmente tóxicos en **suelos**

	Total (mg kg ⁻¹)			Disponible (mg kg ⁻¹)		
	Minas		Control			
	São Domingos	Lousal	Pomarão	São Domingos	Lousal	Pomarão
As	711 - 3030	62-653	18 - 20	0.2 - 1.9	0.03 - 0.4	0.03 - 0.09
Cd	0.3-1.3	0.3 - 1.2	<0.3	0.01 - 0.07	0.02 - 0.05	<0.01 - 0.03
Cr	72 - 91.0	71 - 128	77 -113	0.02 - 0.05	0.03 - 0.07	0.03 - 0.05
Cu	203 - 342	79 - 526	25 - 47	2.7 - 10	0.8 - 8.1	0.09 - 2.2
Mn	100 - 575	500 - 1060	713 - 898	1.84 - 46.8	26.1 - 75.4	40.7 - 50.0
Ni	10.0 - 48	45 - 55	31 - 42	0.06 - 0.39	0.24 - 0.64	0.08 - 0.29
Pb	666 - 9210	95 - 2280	28 - 50	0.2 - 4	0.05 - 1.0	0.07 - 0.7
Sb	55 - 73	15 - 189	1.5 - 2.2	0.03 - 0.2	0.02 - 0.2	<0.01 - 0.01
Zn	36 - 186	166 - 878	92 - 123	2.0 - 7.4	5.9 - 15.8	0.5 - 7.1
pH	3.76 - 4.33	4.09 - 5.40	6.08 - 6.25			

- Contenido total de **As, Sb, Cu y Pb** en suelos de mina >

Límites de referencia:
protección ecosistemas y
salud humana
CCME 2007- VROM 2009

Contenido de metales y otros elementos potencialmente tóxicos en planta



Parte aérea Raíz

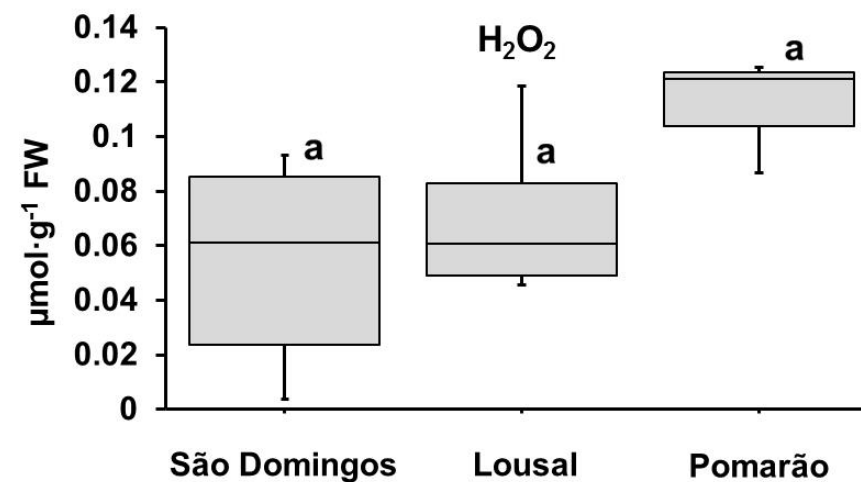
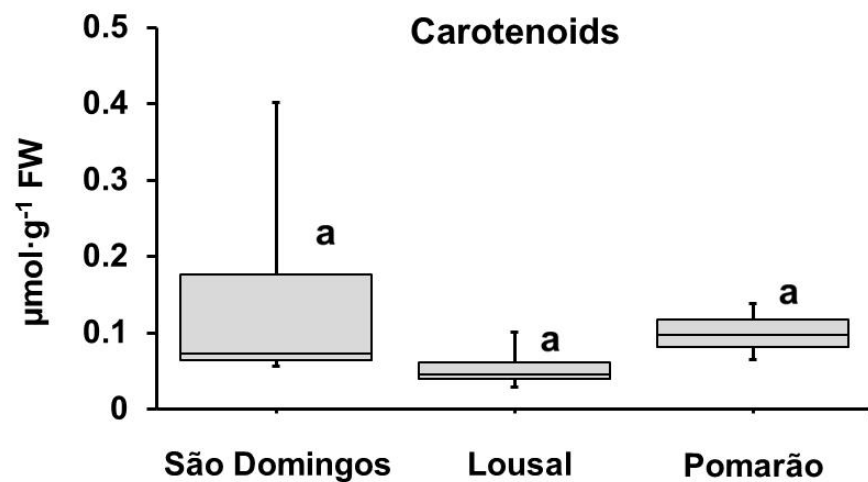
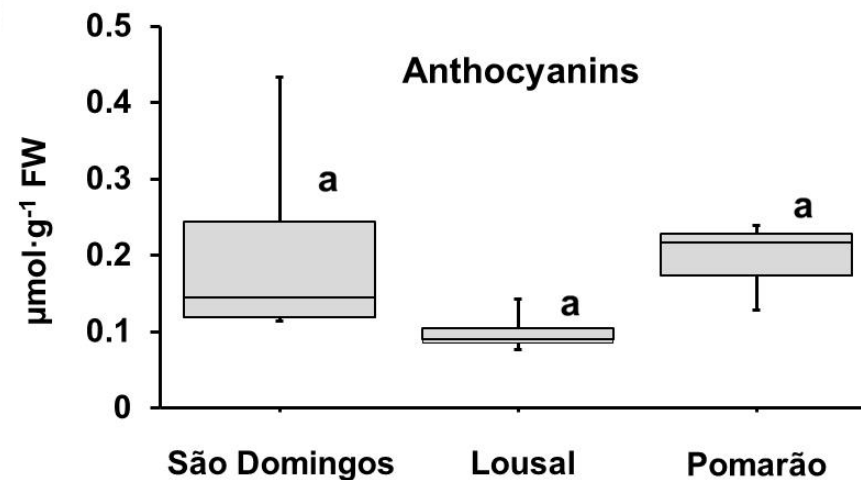
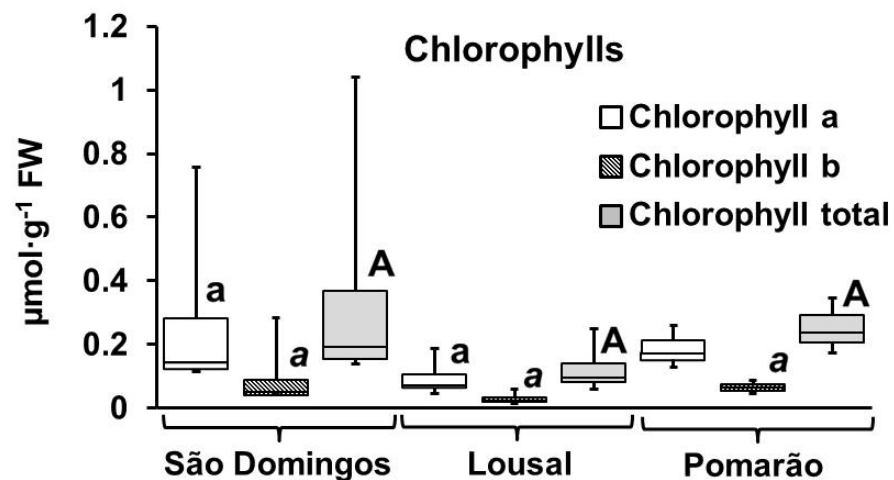


No síntomas de toxicidad

Concentraciones no fitotóxicas

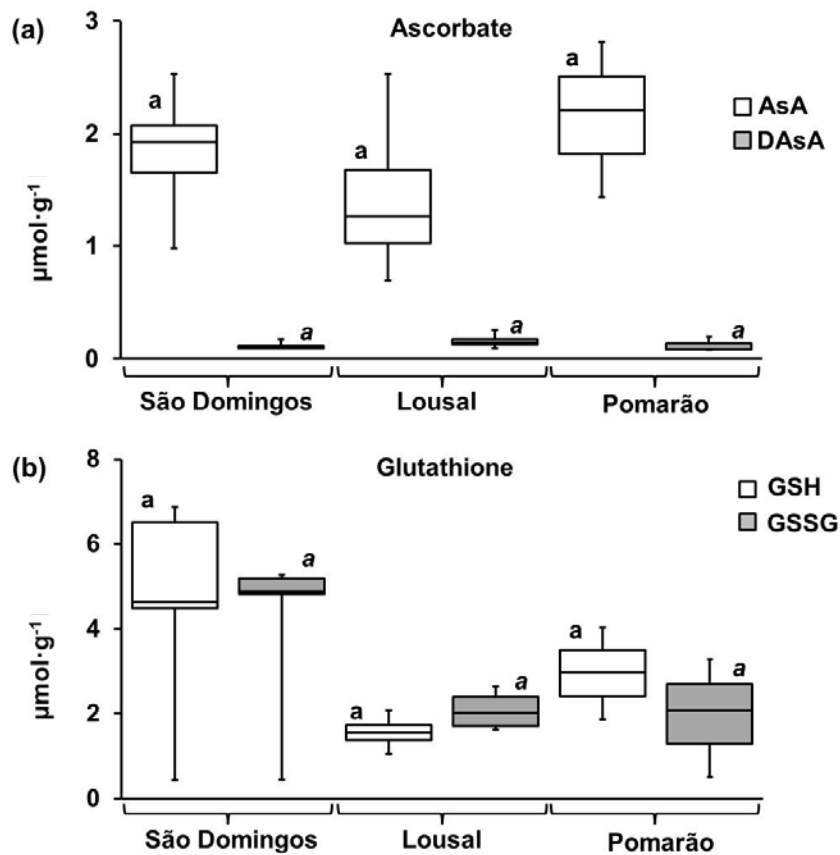
Translocación > 1
As, Sb, Zn, Cu, Cd, Mn y Ni.

Acumuladora → Zn, Mn y Cd



Pigmentos: No diferencias significativas entre los individuos de las minas y del área de referencia

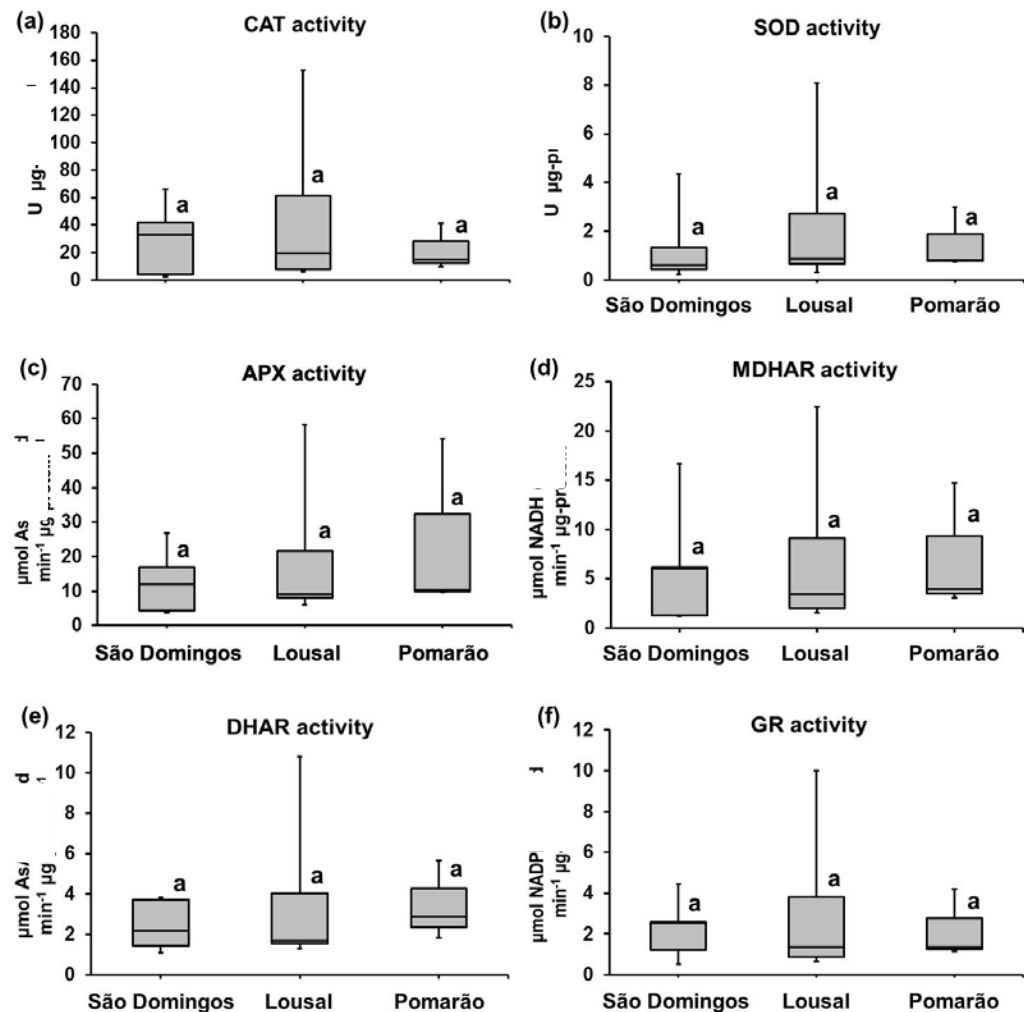
Rápida eliminación de H₂O₂



Medida del estado redox:

Alto % AsA - Bajo % GSH

Estrés oxidativo que perjudica el funcionamiento normal de reducción de glutatión.



No diferencias significativas

C. monspeliensis adapta su actividad enzimática y concentración de moléculas antioxidantes a las concentraciones de metales en la parte aérea

CONCLUSIONES

- 1. La fijación de metales pesados en suelos naturales, tanto si son añadidos individualmente o en competencia se produce principalmente en posiciones intercambiables de la materia orgánica, los óxidos, sobre todo los de Fe amorfos y las arcillas. Los óxidos de Fe cristalinos y la fracción residual apenas contribuyen a su retención; comprobándose además que el aporte de los metales en medio ácido generó reacciones de alteración de diversos minerales primarios, con aumento del contenido de amorfos y aparición de nuevas fases cristalinas.**
- 2. Los mapas elementales obtenidos mediante TOF-SIMS mostraron el solapamiento entre los componentes del suelo y los metales añadidos. Combinando esta técnica con SEM/EDS se comprobó que, generalmente, son asociaciones entre componentes del suelo y no cada uno de ellos, las que, conjuntamente, retienen los metales.**
- 3. Se verificó que el uso combinado de SEM/EDS y TOF-SIMS junto con la difracción de rayos X y la extracción química secuencial, son eficaces para identificar los sorbentes de los suelos y determinar su afinidad para la fijación de metales pesados.**

- 4. En los suelos procedentes de zonas extractivas se detectaron contenidos totales de metales que superan los límites de contaminación indicados en diferentes guías internacionales. Aunque una alta proporción de los metales se encuentra formando parte de la fracción residual, los óxidos de Fe y Mn juegan un papel en su fijación. Las asociadas a la materia orgánica y a la fracción intercambiable son inferiores al 10% del total.**
- 5. En los suelos de mina y cantería se validó también el uso combinado de SEM/EDS, TOF-SIMS, extracción química secuencial y análisis estadísticos como herramienta idónea para identificar los sorbentes del suelo, determinar su afinidad por los metales pesados y comprobar su distribución entre fases amorfas y cristalinas.**
- 6. El riesgo de movilización y lixiviación de cantidades significativas de contaminantes en los suelos procedentes de las escombreras es muy alto. Al drenaje ácido producido por la oxidación de los sulfuros metálicos presentes, se unen las condiciones edáficas desfavorables que inhiben el crecimiento de la vegetación e impiden el desarrollo de una cobertura óptima.**

- 7. *Cistus monspeliensis* L.** crece espontáneamente en suelos de zonas mineras de la Faja Pirítica Ibérica. Su adaptación a altas concentraciones de Zn se evidenció tras contaminar suelos artificialmente y encontrar que el contenido retenido en las raíces fue mayor que en la parte aérea, evitando así problemas de toxicidad y minimizando el estrés oxidativo. Además, activó mecanismos de defensa contra el estrés oxidativo; aumentando la actividad de las enzimas antioxidantes y el ciclo de ascorbato-glutatión, el cual juega un papel principal en la desintoxicación del H_2O_2 .
- 8. *Cistus monspeliensis* L.** colonizó los suelos contaminados mostrando gran tolerancia y adaptabilidad a las condiciones limitantes que presentan los suelos de las minas. Teniendo en cuenta las concentraciones de metales y otros PHEs en la parte aérea, por debajo de los límites de toxicidad y la falta de síntomas de fitotoxicidad, *C. monspeliensis* tiene un alto potencial para la rehabilitación y revegetación natural de suelos de áreas mineras degradadas o abandonadas bajo condiciones mediterráneas.

1. **Arenas-Lago D**, Vega FA, Silva LFO, Andrade ML. Soil interaction and fractionation of added cadmium in some galician soils. *Microchem J* 2013;110:681-90.
2. **Arenas-Lago D**, Lago-Vila M, Rodríguez-Seijo A, Andrade ML, Vega FA. Risk of metal mobility in soils from a Pb/Zn depleted mine (Lugo, Spain). *Environ Earth Sci* 2014;72(7):2541-56.
3. **Arenas-Lago D**, Andrade ML, Lago-Vila M, Rodríguez-Seijo A, Vega FA. Sequential extraction of heavy metals in soils from a copper mine: Distribution in geochemical fractions. *Geoderma* 2014;230-231:108-18.
4. **Arenas-Lago D**, Vega FA, Silva LFO, Lago-Vila M, Andrade L. Lead distribution between soil geochemical phases and its fractionation in Pb-treated soils. *Fresenius Environ Bull* 2014;23(4):1025-35.
5. **Arenas-Lago D**, Vega FA, Silva LFO, Andrade ML. Copper distribution in surface and subsurface soil horizons. *Environ Sci Pollut Res* 2014;21(18):10997-1008.
6. **Arenas-Lago D**, Rodríguez-Seijo A, Cerqueira B, Andrade ML, Vega FA. Cd^{2+} , Cu^{2+} , and Pb^{2+} sorption, desorption and migration in fluvisols. *Span J Soil Sci* 2015;5(3):276-95.
7. Cerqueira B, **Arenas-Lago D**, Andrade ML, Vega FA. Validation of TOF-SIMS and FE-SEM/EDS techniques combined with sorption and desorption experiments to check competitive and individual Pb^{2+} and Cd^{2+} association with components of B soil horizons. *PLoS ONE* 2015;10(4).
8. Cerqueira B, **Arenas-Lago D**, Andrade ML, Vega FA. Using Time Of Flight Secondary Ion Mass Spectrometry and Field Emission Scanning Electron Microscopy with Energy Dispersive X-ray Spectroscopy to determine the role of soil components in competitive copper and cadmium migration and fixation in soils. *Geoderma* 2015;251-252:65-77.
9. **Arenas-Lago D**, Andrade ML, Vega FA, Singh BR. TOF-SIMS and FE-SEM/EDS to verify the heavy metal fractionation in serpentinite quarry soils. *Catena* 2016;136:30-43.
10. **Arenas-Lago D**, Carvalho LC, Santos ES, Abreu MM. The physiological mechanisms underlying the ability of *Cistus monspeliensis* L. from São Domingos mine to withstand high Zn concentrations in soils. *Ecotoxicol Environ Saf* 2016;129:219-27.
11. **Arenas-Lago D**, Rodríguez-Seijo A, Andrade Couce L, Vega FA. Multianalytical approach for the assessment of toxic element distribution in soils from mine and quarry areas. In: *Assessment, Restoration and Reclamation of Mining Influenced Soils* 2017:33-62.
12. **Arenas-Lago D**, Santos ES, Carvalho LC, Abreu MM, Andrade ML. *Cistus monspeliensis* L. as a potential species for rehabilitation of soils with multielemental contamination under mediterranean conditions. *Environ Sci Pollut Res* 2017:1-13.

Muchas gracias...



Daniel Arenas Lago
Área de Edafología y Química Agrícola
Universida de Vigo

Stage	Fraction/ Bound to	Reagents	Vol. (mL)	Conditions
1	Exchangeable	$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 1M pH 7	25	1. 6 g soil; 2h agitation; centrifugation 6000 rpm (10 min); supernatant decantation. 2. Bidistilled water washing (15 mL - 30 min); centrifugation 6000 rpm (10 min). 3- Washed added to supernatant.
2	Organic matter	0.7 M NaClO pH 8.5	15	Remaining fraction: 1- Bath 100°C (30 min); centrifugation 6000 rpm (10 min); supernatant decantation. 2- Bidistilled water washing (15 mL - 30 min); centrifugation 6000 rpm (10 min). 3- Washed added to supernatant. 4- 0.5 mm sieving residue.
3	Mn oxides	0.1M $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ pH 2	25	Remaining fraction: 1- 30 min agitation; centrifugation 6000 rpm (10 min); supernatant decantation. 2- Bidistilled water washing (25 mL - 3 min); centrifugation 6000 rpm (10 min). 3- Washed added to supernatant.

Stage	Fraction/ Bound to	Reagents	Vol. (mL)	Conditions
4	Amorphous Fe oxides	0.25M NH ₂ OH·HCl + 0.25M HCl	25	Remaining fraction: 1- Bath 50°C and agitation (30 min); centrifugation 6000 rpm (10 min). 2- Bidistilled water washing (25 mL - 3 min); centrifugation 6000 rpm (10 min). 3- Washed added to supernatant.
5	Crystalline Fe oxides	0.2M (NH ₄) ₂ C ₂ O ₄ + 0.1M H ₂ C ₂ O ₄ + 0.1M citric acid	25	Remaining fraction: 1- Bath 100°C (30 min); centrifugation 6000 rpm (10 min). 2- Supernatant decantation.
6	Residual	HNO ₃ - HCl (1:3)	9	1- 0.2 g remaining fraction: digestion in microwave oven.

F1 → 0.001M KNO₃, for 24h at room temperature.

F2 → 1M NH₄OAc, soil pH, for 2h at room temperature.

F3 → 1M NH₄OAc, pH 5, for 2h at room temperature.

F4 → 0.04 M NH₂OH HCl in 25 % HAc, for 6h at 80 °C.

F5 → 30 % H₂O₂ at pH 2 (HNO₃), for 5.5h at 80 °C, then 3.2 M NH₄OAc in 20% HNO₃ added for 0.5h at room temperature

F6 → 7 M HNO₃ for 6h at 80 °C.

F7 → Residue.

-Reversible physical sorption by extracting (F1 and F2)

-Reversible electrostatic sorption (F3)

-Irreversible chemisorption (F4, F5, F6, and F7)

Each of the extractions was carried out using agitation with 20 mL of the corresponding reagent.