

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA



**Efectividad de Substancias Húmicas de Leonardita en la Remediación de un
Calisol Contaminado con Plomo**

Por:

JUAN VALENTÍN QUITERIO GUTIÉRREZ

TESIS

**Presentada como Requisito Parcial para
Obtener el Título de:**

INGENIERO AGRÍCOLA Y AMBIENTAL

Saltillo, Coahuila, México

Abril de 2011

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

Efectividad de Substancias Húmicas de Leonardita en la Remediación de un
Calciol Contaminado con Plomo

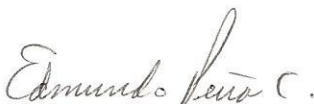
Por:

JUAN VALENTIN QUITERIO GUTIERREZ

TESIS

Que somete a consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para
obtener el título de: Ingeniero Agrícola y Ambiental

APROBADA



Dr. Edmundo Peña Cervantes
Asesor Principal


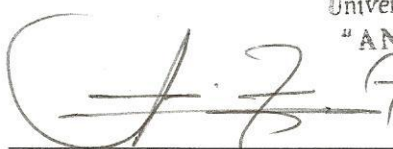


Dr. Rubén López Cervantes
Asesor



M.C. Idalia María Hernández Torres
Asesora

Universidad Autónoma Agraria
"ANTONIO NARRO"



M.C. Luis Rodríguez Gutiérrez
Coordinador de la División de Ingeniería

Coordinación de
Ingeniería

Saltillo, Coahuila, México.

Abril 2011

AGRADECIMIENTOS

A Dios

Por haberme dado la oportunidad de llegar hasta este momento de mi formación profesional a pesar de tantos obstáculos que han dificultado mi camino, pero que a la vez me han servido como experiencia y para entender el valor del sacrificio para lograr una meta.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

A esta Honorable Institución que me abrió sus puertas para adquirir nuevos conocimientos que me servirán para enfrentarme a nuevos retos que me ponga la vida.

Al Jurado Examinador

Al Dr. Rubén López Cervantes, el Dr. Edmundo Peña Cervantes y la MC. Idalia María Hernández Torres por todas sus aportaciones y sugerencias para elaborar y concluir este trabajo.

A mis compañeros de Generación de Ingeniería Agrícola y Ambiental

A Francisco, Israel, Javier, Edgar y Pedro principalmente, por haber compartido varios momentos, ya sean buenos y en ocasiones malos durante nuestra estancia en la universidad, haciendo de esta una experiencia inigualable.

Y a todas aquellas personas que en algún momento me brindaron su amistad y su apoyo y me motivaron con palabras alentadoras en momentos difíciles. Me es difícil mencionarlos a todos, pero ustedes saben quiénes son, gracias por compartirme momentos de su vida.

DEDICATORIA

A mis padres:

*Don Adrián Quiterio cantero
Doña Remedios Gutiérrez Pérez*

Por todas las enseñanzas que me han brindado en todo este tiempo, ustedes me formaron como una persona de bien, cada situación, cada palabra, todo lo eh usado como una lección de vida para no volver a cometer los mismo errores. Me pusieron en el camino correcto, y gracias a todo su apoyo incondicional, logre culminar esta noble profesión.

A mis hermanos:

*A Gilberto
Adriana
Beatriz
Francisco
Tomasa*

Ustedes que son mi familia, siempre pasamos por situaciones difíciles pero las hemos sabido enfrentar correctamente, pero también hemos tenido las más agradables experiencias. Siempre me brindaron su apoyo y ahora yo tratare de corresponderles para demostrarles mi gratitud hacia ustedes.

Y a mis familiares y amigos que siempre estuvieron motivándome y alentándome para lograr una de mis muchas metas que tengo en la vida.

Índice de contenido

	Página
AGRADECIMIENTOS.....	i
DEDICATORIAS.....	ii
Índice de cuadros.....	v
Índice de figuras.....	vi
Resumen.....	vii
Introducción.....	1
Objetivo.....	4
Hipótesis.....	4
Revisión de literatura.....	5
Suelos Contaminados con Metales Pesados.....	5
Formas de Presentación de los Contaminantes en el Suelo y su Disponibilidad.....	9
Movilidad de Metales Pesados en el Suelo.....	10
Las Substancias Húmicas.....	13
Los Ácidos Fúlvicos.....	14
Remediación de Suelos Contaminados con Plomo.....	15
Tratamientos Físico-Químicos.....	16
Remediación Electrocinética.....	17
Inundación del Suelo.....	17
Extracción Química.....	18
Vitrificación (fusión de suelos).....	19
Tratamientos Biológicos (Biorremediación).....	20
Biorremediación microbiana.....	21
Biosorción.....	21
Biom mineralización.....	22
Biolixiviación.....	22
Biotransformación.....	23
Quimiosorción.....	23

La Fitorremediación.....	25
Agentes Quelatantes.....	26
Materiales y métodos.....	28
Características generales del área.....	28
Metodología.....	29
Resultados y discusión.....	32
Conclusiones.....	44
Literatura citada.....	45

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Concentraciones de referencia totales (CT _R) por tipo de uso de suelo (NOM147SEMARNAT/SSA12004).....	12
Cuadro 2. Características físicas y químicas iniciales del suelo utilizado.....	30
Cuadro 3. Tratamientos con su dosificación.....	30
Cuadro 4.- Acides total (AT) y grupos funcionales carboxilo (-COOH) y oxhidrilos (-OH), de sustancias húmicas extraídas de Leonardita.....	31
Cuadro 5. Análisis de varianza del contenido de plomo de lixiviados, en el primer muestreo, al adicionar sustancias húmicas de Leonardita.....	32
Cuadro 6. Análisis de varianza del contenido de plomo de lixiviados, en el segundo muestreo, al adicionar sustancias húmicas de Leonardita.....	34
Cuadro 7. Análisis de varianza del contenido de plomo de lixiviados, en el tercer muestreo, al adicionar sustancias húmicas de Leonardita.....	35

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Mapa de localización de la zona de estudio.....	28
Figura 2. Contenido de plomo de los lixiviados de un suelo contaminado con plomo, con la adición de sustancias húmicas de Leonardita, a los 2 de establecido el experimento.....	33
Figura 3. Contenido de plomo de los lixiviados de un suelo contaminado con plomo, con la adición de sustancias húmicas de Leonardita, a los 15 de establecido el experimento.....	34
Figura 4. Contenido de plomo de los lixiviados de un suelo contaminado con plomo, con la adición de sustancias húmicas de Leonardita, a los 45 de establecido el experimento.....	35
Figura 5. Contenido de materia orgánica de un suelo contaminado con plomo, al adicionar sustancias húmicas de Leonardita, al final de la experiencia.....	36
Figura 6. Comportamiento del pH de un suelo contaminado con plomo, al adicionar sustancias húmicas de Leonardita, al final de la experiencia.....	37
Figura 7. Comportamiento de la conductividad eléctrica de un suelo contaminado con plomo, al adicionar sustancias húmicas de Leonardita, al final de la experiencia.....	38
Figura 8. Comportamiento del pH de lixiviados de un suelo contaminado con plomo, al adicionar ácidos húmicos de Leonardita, en función del tiempo.....	39
Figura 9. Comportamiento del pH en los lixiviados de un suelo contaminado con plomo, al adicionar los ácidos fúlvicos de Leonardita, en función del tiempo.....	40
Figura 10. Cantidad de plomo extraído de un suelo contaminado, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita, en función del tiempo.....	41
Figura 11. Cantidad de plomo extraído de un suelo contaminado, con la adición de los ácidos fúlvicos de Leonardita, en función del tiempo.....	42

RESUMEN

Con el objetivo de determinar la efectividad de sustancias húmicas de Leonardita, en la remediación de un Calcisol contaminado con plomo, se colocó en macetas de plástico 1 kg de este suelo y se les adicionaron 2, 4 y 6 ml litro^{-1} de agua de dos ácidos húmicos: uno experimental (AHE) y el otro comercial (AHC); así como las mismas cantidades de dos ácidos fúlvicos y denominados de igual forma: experimentales (AFE) y comerciales (AFC). Después de un día, a los 15 y a los 45, fueron colectados los lixiviados del suelo y se les midió el pH y el contenido de plomo (Pb). Se encontró que al aplicar 6 ml litro^{-1} de agua de los ácidos fúlvicos comerciales, se extrajo la superior cantidad de plomo, porque con este tratamiento se aventajó al testigo en 133 por ciento y además, el pH disminuyó considerablemente. Se concluye que los ácidos fúlvicos experimentales, de forma general, aumentan la extracción de plomo del suelo contaminado, en función del tiempo; mientras que de forma particular, 6 ml litro^{-1} de agua del ácido fúlvico comercial, lo efectuaron.

Palabras clave: *remediación de suelos, sustancias húmicas, metales pesados.*

INTRODUCCION

Los metales pesados contribuyen fuertemente a la contaminación ambiental, la cantidad de metales disponibles en el suelo está en función del pH, el contenido de arcillas, contenido de materia orgánica, capacidad de intercambio catiónico, y otras propiedades que las hacen únicas en materia de la contaminación (sauve *et al.* 2000). Además son definidos como elementos con propiedades metálicas (conductividad, ductilidad, etc.), número atómico mayor de 20, y cuya densidad es mayor a 5 g cm³. Se consideran metales pesados el plomo, cadmio, cromo, mercurio, zinc, cobre, plata y arsénico, los cuales constituyen un grupo de gran importancia, ya que algunos son esenciales para las células, pero en altas concentraciones pueden resultar tóxicos para los seres vivos, tales como humanos, organismos del suelo, plantas y animales (Spain *et al.* 2003).

El uso inadecuado y prolongado de agroquímicos, incluyendo fertilizantes y pesticidas incrementan la presencia de metales pesados en suelos agrícolas. Por ejemplo, los fertilizantes fosforados contiene plomo, zinc, arsénico y cadmio, porque la roca fosfórica de donde los elaboran, los contiene y el uso de ciertos plaguicidas ha contribuido a incrementar los niveles de plomo, arsénico, mercurio y cobre, debido a que algunos poseen más del 25 por ciento de alguno de estos elementos.

Los suelos agrícolas del noreste de México se caracterizan por tener pH de 7.8 a 8.7, menos de 1% de materia orgánica, la fracción de arcilla está dominada por illitas y montmorillonitas y más del 25% de carbonatos de calcio (FAO/UNESCO, 1994), lo cual provoca fijación de iones metálicos, entre ellos el plomo, este es poco soluble o insoluble en suelos con estas características. La recuperación de estos, es uno de los problemas más difíciles de resolver por los especialistas en remediación de suelos.

Una de las técnicas tendientes a resolver la contaminación originada por metales pesados en suelos, es aquella basada en el uso de plantas que tienen la propiedad de extraer y acumular metales pesados; proceso denominado “fitorremediación” o “fitoextracción” que consiste en la remoción, transferencia, estabilización y/o degradación y neutralización de compuestos orgánicos, inorgánicos y radioactivos que resultan tóxicos en suelos y agua. En la fitorremediación, se han empleado ciertos agentes quelatantes (compuestos orgánicos ligantes sintéticos de cationes), los cuales facilitan la disponibilidad de iones metálicos para el crecimiento de las plantas (Raskin *et al.* 1997).

Recientemente se ha encontrado que los ácidos húmicos (AH) y los ácidos fúlvicos (AF), ambos procedentes de la materia orgánica, pueden complejar y/o quelatar cationes, debido a su alto contenido de grupos funcionales libres oxigenados. En los AH dominan los grupos funcionales carboxilos y para los AF, los oxhidrilos fenólicos, porque más del 80 por ciento de la estructura molecular de dichos ácidos, está formada por los grupos funcionales mencionados (Schnitzer, 2000), sin embargo, contrario a lo anterior encontró López (2002), al analizar compuestos húmicos extraídos de compost.

Debido a lo anterior se ha pensado en este trabajo y previamente a la recomendación de una fitorremediación, utilizar agentes quelatantes para observar la movilidad del plomo y tomando como base este estudio para así recomendar el uso de algunos agentes quelatantes como coadyuvantes en trabajos de fitorremediación.

OBJETIVOS

- Determinar la efectividad de sustancias húmicas de Leonardita, en la remediación de un Calcisol contaminado con plomo.

HIPOTESIS

- Las sustancias húmicas de Leonardita, con mayor número de grupos funcionales oxigenados, poseen mayor capacidad de quelatar el plomo de un Calcisol contaminado, colocarlo biodisponible y así remediarlo.

REVISION DE LITERATURA

Suelos Contaminados con Metales Pesados

La tabla periódica incluye unos 70 elementos metálicos, y de ellos 59 pueden ser considerados “metales pesados”, que son aquellos con peso atómico mayor que el del hierro (55,85 g/mol) y una densidad superior a 5 gr cm⁻³. Con esta precisión se excluirían metales con pesos atómicos menores que el del Fe y que con frecuencia pueden ser metales contaminantes, como el V (50,95), Mn (54,44), Cr (52,01) y otros que realmente no son metales como As, F y P. Por ello, resulta mejor hablar de contaminación por “elementos traza”, si bien hay que reconocer que la mayoría de los contaminantes inorgánicos son “metales pesados”.

Aunque algunos son imprescindibles para el desarrollo de las funciones vitales de los organismos, los denominados esenciales como cobalto, cobre, hierro, manganeso, molibdeno, zinc, vanadio, y estroncio, en cantidades excesivas son perjudiciales e incluso letales para los seres vivos. Los metales pesados no esenciales comúnmente implicados en problemas de contaminación por las aguas subterráneas son: cromo, cadmio, mercurio, plomo, arsénico y antimonio (Kennish, 1992).

La explotación y extracción de metales produce anualmente millones de toneladas de residuos, la mayoría con piritas y otros sulfuros, cuya oxidación libera

grandes cantidades de metales pesados al ambiente, y en particular a los suelos. En estas áreas, las capas superiores de los suelos presentan concentraciones elevadas de Cu, Ni, As, Se, Cd, Fe, etc., dependiendo lógicamente del tipo de mineralización explotada. Los suelos que quedan tras una explotación minera contienen todo tipo de materiales residuales, escombros estériles, entre otros, lo que representa graves problemas para el desarrollo de la cubierta vegetal, siendo sus características más notables las siguientes: clase textural desequilibrada, ausencia o baja presencia de la estructura edáfica, propiedades químicas anómalas, disminución o desequilibrio en el contenido de nutrientes fundamentales, ruptura de los ciclos biogeoquímicos, baja profundidad efectiva, dificultad de enraizamiento, baja capacidad de cambio, baja retención de agua y presencia de compuestos tóxicos (García, Dorronsoro, 2002).

Las principales fuentes antropogénicas de metales pesados en suelos, además de las relacionadas con la minería, pueden ser:

- Actividades agrícolas: riego, fertilizantes inorgánicos, pesticidas, estiércol, enmiendas calizas y, sobre todo, lodos residuales de depuradoras.
- Generación de energía eléctrica: la combustión de carbón es una de las principales fuentes de deposición de metales en el suelo. Las centrales térmicas que usan petróleo pueden ser fuentes de Pb, Ni y V.
- Actividades industriales: las principales industrias contaminantes son las fábricas de hierro y acero, que emiten metales asociados a las menas de Fe y Ni. La fabricación de baterías produce cantidades considerables de Pb. Las industrias de productos químicos, fármacos, pigmentos y tintes, el curtido de pieles, etc.

Producen distintos tipos de contaminantes. En general las áreas altamente industrializadas incluyen As, Cd, Cr, Hg, Fe, Ni, Pb y Zn.

- Residuos domésticos: aproximadamente el 10% de la basura está compuesta por metales. Su enterramiento puede contaminar las aguas subterráneas, mientras que la incineración puede contaminar la atmósfera al liberar metales volátiles y como consecuencia contaminar los suelos. Por otra parte, las basuras no controladas obviamente son una importante fuente de contaminantes para el suelo y las aguas superficiales.

Los metales tienden a acumularse en la superficie del suelo quedando accesibles al consumo de las raíces de los cultivos (Baird, 1999). Las plantas cultivadas en suelos contaminados absorben en general más oligoelementos y la concentración de éstos en los tejidos vegetales está a menudo directamente relacionada con su abundancia en los suelos, y especialmente en la solución húmeda (Kabata-Pendia, Pendias, 2001) Gulson *et al.* (1996) mencionan que excesivas concentraciones de metales en el suelo podrían impactar la calidad de los alimentos, la seguridad de la producción de cultivos y la salud del medio ambiente, ya que estos se mueven a través de la cadena alimenticia vía consumo de plantas por animales y estos a su vez por humanos.

En el suelo, los metales pesados están presentes como iones libres, compuestos metálicos solubles, compuestos insolubles como óxidos, carbonatos e hidróxidos. Su acción directa sobre los seres vivos ocurre a través del bloqueo de las actividades biológicas, es decir, la inactivación enzimática por la formación de enlaces entre el metal

y los grupos –SH (sulfhídricos) de las proteínas, causando daños irreversibles en los diferentes organismos. Para que los metales pesados puedan ejercer su toxicidad sobre un ser vivo, estos deben encontrarse disponibles para ser captados por este, es decir que el metal debe estar biodisponible. El concepto de biodisponibilidad se encuentra íntimamente relacionado con las condiciones fisicoquímicas del ambiente, que determinan la especiación y por lo tanto la concentración del metal libre y lábil. Por ello es fundamental al determinar el grado de contaminación por metales pesados de un ambiente, conocer su biodisponibilidad, es decir, la concentración del metal libre presente en la muestra (Lloyd y Lovley, 2001).

Aproximadamente en un 10% de los metales se encuentran como contenido nativo pertenecientes a materiales de algunos suelos, pero más del 90% llegan al suelo por deposiciones atmosféricas secas y húmedas y como resultado de algunas prácticas agronómicas (Adriano, 1990). Algunos de estos metales como Cr, Cu, Co y Mo, son elementos traza para animales, microorganismos y plantas, mientras que otros como el Pb, Cd, no lo son; sin embargo, otros como el Zn en altas concentraciones es considerado como tóxico. Su biodisponibilidad y toxicidad a microorganismos incluyendo hongos micorrízicos, plantas y animales son influidos por diversos factores particularmente pH, temperatura, potencial redox, capacidad de intercambio catiónico de la fase sólida y competencia entre iones (Leyval *et al.* 1994; Schmit y Sticher, 1991).

Formas de Presentación de los Contaminantes en el Suelo y su Disponibilidad

Los contaminantes en suelos y sedimentos se pueden hallar en seis formas diferentes (Rulkens *et al.*, 1995): como partículas (contaminantes particulados), como películas líquidas, adsorbidos, absorbidos, disueltos en el agua intersticial de los poros, o como fases sólidas en los poros.

Para cada caso el comportamiento del contaminante es distinto. Por tanto, el análisis químico de los elementos traza de un suelo es una medida poco representativa de la peligrosidad de los posibles contaminantes. Indica en todo caso la peligrosidad potencial o futura, pero no la actual, de los elementos determinados, siempre con referencia a ciertos valores acordados previamente, que no deben ser superados. Por ello, además de este análisis, se debe disponer de datos sobre cómo se encuentran estos elementos potencialmente tóxicos, tanto en su formas físicas como química, y las fracciones asimilables, que es una medida directa de la peligrosidad real. De otra forma, la facilidad con la que un metal potencialmente tóxico puede acceder a la cadena alimenticia a través del suelo depende de si el metal está libre en solución intersticial o en fases sólidas, o cómo el metal está ligado a las partículas de suelo y su forma química, o sea de su especiación. En este sentido, Kabata-Pendias (1995) señala que según se encuentre el metal retenido en el suelo, así será su disponibilidad relativa por las plantas y por tanto la incorporación a los organismos.

Movilidad de Metales Pesados en el Suelo

La contaminación del suelo por metales pesados esta principalmente relacionada con diferentes tipos de actividades humanas. Una vez en el suelo, estos pueden quedar retenidos en el mismo pero también pueden ser movilizados en la solución del suelo mediante diferentes mecanismos biológicos y químicos (Pagnanelli *et al.* 2004). Los metales pesados adicionados a los suelos se redistribuyen y reparten lentamente entre los componentes de la fase sólida. Dicha redistribución se caracteriza por una rápida retención inicial y posteriores reacciones lentas, dependiendo de las especies del metal, propiedades del suelos, nivel de introducción y tiempo (Han *et al.* 2003).

La movilidad relativa de los elementos traza en suelos es de suma importancia en cuanto a su disponibilidad y su potencial para lixiviarse de los perfiles del suelo al agua subterránea y difiere de si su origen es natural o antrópico y, dentro de este último, al tipo de fuente antrópica (Burt *et al.* 2003).

Los factores que influyen en la movilización de metales pesados en el suelo son: características del suelo: pH, potencial rédox, composición iónica de la solución del suelo, capacidad de cambio, presencia de carbonatos, materia orgánica, textura; naturaleza de la contaminación: origen de los metales y forma de deposición y condiciones medioambientales: acidificación, cambios en las condiciones rédox, variación de temperatura y humedad (Sauquillo *et al.* 2003).

En general, los metales pesados incorporados al suelo pueden seguir cuatro diferentes vías: quedan retenidos en el suelo, ya sea disueltos en la fase acuosa del suelo, ocupando sitios de intercambio o específicamente adsorbidos sobre constituyentes inorgánicos del suelo, asociados con la materia orgánica del suelo y/o precipitados como sólidos puros o mixtos; pueden ser absorbidos por las plantas y así incorporarse a las cadenas tróficas; pasan a la atmosfera por volatilización y se movilizan a las aguas superficiales o subterráneas (García y Dorronsoro, 2005).

Actualmente, en nuestro país, la investigación realizada en materia de contaminación de suelos por elementos potencialmente tóxicos (EPT) y sus potenciales implicaciones hacia el ambiente y la salud, ha sido escasa; como consecuencia, el desarrollo tecnológico para dar solución a este tipo de problemas es insuficiente. Una de las causas de este vacío ha sido la falta de normatividad con respecto a los límites de limpieza para suelos contaminados con EPT. Muchos EPT, dependiendo de su forma química y concentración, así como de las condiciones y características del sitio en que se encuentren, pueden representar o no, un riesgo ambiental y de salud. Por esta razón, es indispensable que antes de evaluar la posibilidad de remediar un sitio, se determinen las características del contaminante (especie química, concentración, valencia, biodisponibilidad, solubilidad, toxicidad) y del sitio (pH, tipo de suelo, temperatura, permeabilidad, potencial rédox), a través de una caracterización (Volke *et al.* 2005).

La escases de regulaciones en materia de remediación de suelos contaminados ha generado la aparición de sitios contaminados, los que se han constituido en pasivos ambientales y causado la incertidumbre de los particulares en cuanto a las acciones que

se deben llevar a cabo para remediar un sitio. En el año de 1988 la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA) estableció unos criterios interinos para llenar este vacío de la normatividad ambiental, sin embargo estos criterios interinos no tienen la formalidad jurídica para hacerlos realmente aplicables. De acuerdo a los datos presentados en el informe 1995-2000 de PROFEPA, en México se tienen identificados 61 sitios contaminados por elementos pesados (Norma NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 por normativizar la remediación de sitios contaminados Diario Oficial de la Federación (DOF), 2005).

Como niveles de referencia se toman en cuenta las Normas Mexicanas. Los parámetros de interés son contenido soluble y total en suelo del contaminante (cuadro 1).

Cuadro 1. Concentraciones de referencia totales (CT_R) por tipo de uso de suelo (NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004).

Contaminante	Uso agrícola/residencial (mg kg ⁻¹)	Uso industrial (mg kg ⁻¹)
Arsénico	22	260
Bario	5400	67000
Berilio	150	1900
Cadmio	37	450
Cromo Hexavalente	280	510
Mercurio	23	310
Níquel	1600	20000
Plata	390	5100
Plomo	400	800
Selenio	390	5100
Talio	5,2	67
Vanadio	78	1000

NOTA: a) En caso de que se presenten diversos usos del suelo en un sitio, debe considerarse el uso que predomine.

b) cuando en los programas de ordenamiento ecológico y de desarrollo urbano no estén establecidos los usos del suelo, se usara el valor residencial.

Las Substancias Húmicas

Schnitzer (1978), divide a la materia orgánica del suelo, en dos grupos: sustancias no húmicas y húmicas. Las sustancias no húmicas son carbohidratos, proteínas, grasas, ceras, resinas, pigmentos y compuestos de bajo peso molecular (ácidos orgánicos) (Aleksandrova, 1994; Schnitzer y Schulten, 1995 y Yano *et al.* 1998). Las sustancias húmicas (SH) son una mezcla heterogénea de macromoléculas orgánicas, con estructura química compleja, distinta y más estable que su forma original; provienen de la descomposición de residuos de plantas y animales, así como de la actividad de síntesis de microorganismos (Schnitzer, 1978 y Stevenson, 1982).

Las sustancias húmicas se dividen en tres grupos de acuerdo a su grado de solubilidad en soluciones acidas y básicas concentradas y son: los ácidos húmicos (AH), los ácidos fúlvicos (AF) y las huminas residuales (HR). Los ácidos húmicos y fúlvicos, son macromoléculas aromáticas complejas, muy estables, con estructura polimérica en forma de círculos, cadenas y racimos (Schnitzer y Schulten, 1995), y ciclos aromáticos condensados, con aminoácidos, amino-azucres, péptidos y compuestos alifáticos (Schnitzer, 1978 y Stevenson, 1982). El contenido en carbono de los ácidos húmicos es mayor al de los ácidos fúlvicos. De un 50 a un 60% y de un 40 a un 50% respectivamente. El contenido en nitrógeno generalmente es mayor también en los ácidos húmicos, de un 2 a un 6%, y de un 0.8% a un 3% en los ácidos fúlvicos. El contenido en oxígeno es mayor en los ácidos fúlvicos que los húmicos: de un 44 a un 50% y de un 30 a un 35% respectivamente. La reactividad de los ácidos húmicos y fúlvicos se debe básicamente a un alto contenido en grupos funcionales oxigenados

COOH, OH fenólicos, OH alcohólico y C = O quinónico, hidroxiquinónico y de cetonas α - β insaturadas. El contenido en grupos funcionales oxigenados en los ácidos fúlvicos parece ser mayor que en cualquier otro polímero orgánico presente en la naturaleza.

Los Ácidos Fúlvicos

Son la porción soluble en agua bajo las condiciones de pH. Ellos permanecen en solución después de la separación de los ácidos húmicos por acidificación. Los ácidos fúlvicos (AF) son de color amarillo claro a café-amarillento, de bajo peso molecular (de 170 a 2000 Kda), alto contenido de oxígeno (48 por ciento), pero bajo contenido de carbono (45 por ciento); contienen más grupos funcionales de naturaleza ácida, particularmente carboxilos. La acidez total es de 900 a 1400 meq 100g⁻¹ y considerablemente más altos que los ácidos húmicos (400 a 870 meq 100g⁻¹) (Stevenson, 1982).

Los AF se distinguen de los AH por su coloración más clara, por el contenido relativamente bajo en carbono (menos del 55 por ciento) y por su buena solubilidad en agua, alcohol, álcalis y ácidos minerales. Los AF pertenecen al grupo de los ácidos hidroxicarboxílicos y en la hidrólisis ácida forman sustancias reductoras; además, tienen alta capacidad de cambio (hasta 700 meq 100g de sustancia), actúan destructivamente sobre los minerales, son propensos a formar complejos R₂O₃ que poseen gran movilidad, por lo tanto parece ser que ya no existen dudas sobre los AF como grupos independientes de materias húmicas con propiedades distintas a la de los AH. A parte de los AF propiamente dicho se han descubierto hidratos de carbono,

glucósidos, sustancias de naturaleza fenólica, ácidos urónicos y ácidos orgánicos nitrogenados. Datos obtenidos de espectroscopia infrarroja, dan testimonio de la presencia de elementos de naturaleza aromática. Sobre la baja aromatización de los AF hablan los datos de la composición elemental en el cual el porcentaje de carbono es significativamente más bajo y el de hidrogeno supera el de los AH (Meléndez, 2003).

Los AH y los AF poseen un alto contenido de grupos funcionales libres oxigenados (-COOH y -OH), que pueden complejar y/o quelatar cationes, sobre todo metálicos, ya que son más rápidamente adsorbidos que los alcalino-térreos (Harter y Naidu, 1995). En los primeros compuestos orgánicos, dominan los grupos funcionales carboxilos (entre 500 y 900 meq 100g^{-1}) y para los segundos, los grupos oxhidrilos fenólicos (no más de 1400 meq 100g^{-1}), por que más del 80 por ciento de la estructura molecular de dichos ácidos, está formada por los grupos funcionales mencionados (Harter y Naidu, 1995; Schnitzer, 2000). Contrario a lo anterior encontró López (2002), al analizar compuestos húmicos extraídos de compost.

Remediación de Suelos Contaminados con Plomo

La recuperación de suelos contaminados con metales pesados es uno de los problemas más difíciles de las tecnologías de descontaminación. La restauración ambiental se puede llevar a cabo por diversas estrategias que suponen eliminar los contaminantes, o estabilizarlos en el suelo. Las técnicas más drásticas se basan en procesos físicos o físico-químicos, como la extracción físico-química de metales por lixiviación acida y electro-ósmosis, o la inmovilización *in situ*, ej. Vitricación, en caso

de contaminación superficial, la eliminación de la capa superficial del suelo contaminado. Estos métodos son muy drásticos y caros, precisan de equipos y personal especializado, y solo son adecuados para la descontaminación de áreas pequeñas. Además, estos métodos eliminan la actividad biológica del suelo tratado y afectan negativamente a su estructura física (Bernal, 1997).

Tratamientos Físico-Químicos

Este tipo de tratamientos, aprovecha las propiedades físicas y/o químicas de los contaminantes o del medio contaminado para destruir, separar o contener la contaminación. Estas tecnologías generalmente son efectivas en cuanto a costos y pueden concluirse en periodos cortos, en comparación con las tecnologías biológicas. Sin embargo, los costos pueden incrementarse cuando se utilizan técnicas de separación, en las que los contaminantes requieran tratamiento o disposición (Van Deuren *et al.*, 1997; Volke y Velasco, 2002). Las tecnologías fisicoquímicas incluyen tres estrategias básicas de acción sobre el contaminante: destrucción, extracción e inmovilización. Entre las principales ventajas de los tratamientos fisicoquímicos, se encuentran: a) efectivos en cuanto a costos; b) pueden realizarse en periodos cortos; c) el equipo es accesible y no se necesita de mucha energía ni ingeniería. Algunas desventajas de estos tratamientos son: a) los residuos generados por técnicas de separación deben tratarse o disponerse, lo que incrementa costos y necesidad de permisos; b) los fluidos de extracción pueden aumentar la movilidad de los contaminantes, lo que implica la necesidad de sistemas de recuperación (Volke y Velasco, 2002).

Remediación Electrocinética:

El tratamiento electrocinético (remediación electrocinética o electro-remediación), es una tecnología emergente de remediación *in situ*, altamente efectivo en la remoción de metales pesados y compuestos orgánicos altamente solubles en agua (Ko *et al.* 2000). La electro-remediación de un suelo, involucra la aplicación de una corriente directa de bajo voltaje o de un gradiente de potencial bajo a través de un electrodo positivo (ánodo) y uno negativo (cátodo) que se insertan en el suelo (Riser-Roberts, 1998).

Durante la aplicación de una corriente eléctrica, se crea un campo eléctrico entre los electrodos, en donde las sustancias solubles (contaminantes) tienden a migrar hacia uno de los electrodos, en función de sus cargas, polaridad y movilidad (Ko *et al.* 2000). Dentro de los contaminantes que pueden tratarse por procesos electroquímicos, se encuentran: metales pesados (Pb, Hg, Cd, Ni, Cu, Zn, Cr); especies radioactivas (^{137}Cs , ^{90}Sr , ^{60}Co , Ur); aniones tóxicos (NO_3^- , SO_4^-); mezclas de contaminantes orgánicos/iónicos; hidrocarburos del petróleo; hidrocarburos halogenados; PAHs; BTEX; cianuros y explosivos (Van Cauwenberghe, 1997).

Inundación del Suelo:

La inundación del suelo (SoilFlushing) *in situ* es una técnica que consiste en inundar al suelo contaminado con una solución acuosa, llevando los contaminantes hasta un sistema de extracción. Esta tecnología aplicada *ex situ*, se conoce como lavado de

suelos (SoilWashing) (US EPA, 1996). El uso de ambas técnicas es recomendable para suelos arenosos, ya que éstos permiten el paso de la solución de lavado; esto, junto con las propiedades de ciertos aditivos (que pueden contaminar el agua subterránea) puede limitar la eficacia general del proceso (US EPA, 1997). El lavado de suelos, a diferencia de la inundación, puede concentrar los contaminantes en un volumen menor de suelo, debido a la separación entre partículas finas y gruesas, ya que los contaminantes generalmente se encuentran sorbidos sobre las partículas más finas (Freeman, 1998).

El tipo de solución a emplear para el lavado o inundación, depende de los contaminantes a tratar y de las características del sitio, y puede ser agua o agua con aditivos como ácidos, bases o agentes tensoactivos. Para extraer metales y contaminantes orgánicos, pueden emplearse soluciones ácidas. Las soluciones básicas se usan para tratar fenoles y algunos metales. Las soluciones tensoactivas son eficaces para retirar contaminantes oleosos (US EPA, 1996). En general, el lavado de suelos *ex situ* con ácidos fuertes para la extracción de metales puede variar entre 10 y 40 minutos, mientras que el proceso de inundación puede llevar horas o días (US EPA, 1997). Una vez que se realiza el tratamiento, los contaminantes quedan en la fase acuosa, por lo cual debe procederse a tratar esta solución por los métodos convencionales de tratamiento de agua.

Extracción Química:

La extracción química no destruye los contaminantes, sino que los separa de suelos, lodos y sedimentos, para así reducir el volumen del material a tratar. La

tecnología utiliza un químico de extracción y difiere del lavado de suelos, que generalmente utiliza agua o agua con aditivos.

La extracción ácida (con ácido clorhídrico) puede utilizarse en el tratamiento de suelos contaminados con metales pesados. El suelo contaminado debe tamizarse para remover sólidos gruesos y, posteriormente, se adiciona el HCl al suelo en una unidad de extracción. El tiempo de residencia del ácido, varía en función del tipo de suelo y del tipo y concentración de los contaminantes. Durante el proceso, el agente de extracción se bombea continuamente fuera del tanque de mezclado; cuando se completa la extracción, el suelo se transfiere a un sistema en el cual se enjuaga con agua para eliminar los metales y el ácido. De esta manera los metales se concentran en una forma potencialmente conveniente para su recuperación (Van Deuren *et al*, 1997).

Vitrificación (fusión de suelos):

La vitrificación es un proceso de solidificación/estabilización, ya que convierte los residuos a formas estructuralmente más estables, con un potencial reducido para la migración de contaminantes al medio ambiente. Usualmente ha sido aplicada para la inmovilización de muchos contaminantes inorgánicos. El proceso no requiere de la adición de reactivos e implica la fusión del suelo contaminado, por acción de temperaturas elevadas (1600 a 2000 °C), alcanzadas por el paso de una corriente eléctrica continua de alto voltaje, seguida por el rápido enfriamiento del material fundido que contiene los contaminantes incorporados en un producto vitrificado. El proceso se

inicia utilizando una capa superficial de grafito y vidrio poroso, que sirven como ruta de encendido (Becerril y Navarrete, 1993).

Debido a las temperaturas utilizadas en el proceso, ningún contaminante orgánico permanece en el producto; de los contaminantes inorgánicos, unos se descomponen (cianuros), mientras otros se disuelven o reaccionan con el material fundido. El uso de suelo contaminado, como material para la fabricación de vidrio, ofrece ventajas como técnica de tratamiento, ya que se genera un producto con usos potenciales. Para la remediación de suelos, la vitrificación *in situ* ha sido probada a escala piloto; en los EE.UU., la tecnología se encuentra disponible comercialmente y se ha empleado con éxito en dos sitios, uno contaminado con metales (US EPA, 1997; Chandler *et al.*, 1997).

Tratamientos Biológicos (Biorremediación):

El término biorremediación se utiliza para describir una variedad de sistemas que utilizan organismos vivos (plantas, hongos, bacterias, etc.) para degradar, transformar o remover compuestos orgánicos tóxicos a productos metabólicos inocuos o menos tóxicos. Esta estrategia depende de las actividades catabólicas de los organismos, y por consiguiente de su capacidad para utilizar los contaminantes como fuente de alimento y energía (Van Deuren *et al.*, 1997). Este tipo de tratamientos son: a) efectivos en cuanto a costos; b) tecnologías más benéficas para el ambiente; c) los contaminantes generalmente son destruidos; d) se requiere un mínimo o ningún tratamiento posterior. Sin embargo, entre sus desventajas destacan: a) mayores tiempos de tratamiento; b) es

necesario verificar la toxicidad de intermediarios y/o productos; c) no pueden emplearse si el tipo de suelo no favorece el crecimiento microbiano (Volke y Velasco, 2002).

Biorremediación microbiana:

Dentro de la amplia diversidad microbiana, existen microorganismos resistentes y tolerantes a los metales. Los primeros, se caracterizan por poseer mecanismos de detoxificación codificados genéticamente, e inducidos por la presencia de un metal; los microorganismos tolerantes, son indiferentes a la presencia o ausencia de metal. Ambos tipos de microorganismos son de particular interés como captores de metales en sitios contaminados, debido a que ambos pueden extraer los contaminantes de una matriz contaminada. Con base en estos mecanismos, las estrategias biológicas para la remoción o inmovilización de contaminantes inorgánicos presentes en una matriz como el suelo, pueden dividirse en: biosorción, biomineralización, biolixiviación, biotransformación y quimiosorción (Volesky y Holan, 1995).

Biosorción:

La *biosorción* es la separación pasiva de metales y metaloides por interacciones con material biológico vivo o muerto y es, hasta ahora, el acercamiento más práctico y ampliamente usado para la biorremediación de metales (Barkay y Schaefer, 2001). Implica mecanismos fisicoquímicos por los que las especies metálicas son sorbidas y/o acomplejadas en biomasa o productos microbianos (Gadd, 2000). Los procesos de *biosorción* son, esencialmente, pseudoprosos de intercambio iónico, en los cuales los

iones metálicos son intercambiados hacia componentes de carga opuesta unidos a la biomasa o a una resina. En general, depende del pH del líquido y de las características químicas del metal (Eccles, 1999).

Biom mineralización:

La biom mineralización o precipitación microbiana es la formación de precipitados metálicos insolubles por interacciones con productos del metabolismo microbiano. La biom mineralización de metales y metaloides en forma de minerales de azufre, hidróxido, fosfato y carbonato, tiene aplicaciones potenciales para la biorremediación (Barkay y Schaefer, 2001). La precipitación reductora es un mecanismo por el cual, los microorganismos reducen la movilidad y toxicidad de un metal, a través de su reducción a un menor estado redox, ofreciendo aplicaciones potenciales para la biorremediación. Ciertos microorganismos anaerobios, durante su respiración, reducen formas metálicas oxidadas altamente solubles a formas elementales (reducidas) insolubles, dando como resultado la detoxificación y precipitación (Lovley y Coates, 1997; Barkay y Schaefer, 2001).

Biolixiviación:

La biorremediación de suelos contaminados con metales por lixiviación microbiana o *biolixiviación* es una tecnología relativamente nueva, simple y efectiva, utilizada para la extracción de metales a partir de minerales y/o concentrados que los contienen. La recuperación a partir de minerales de azufre o de hierro, se basa en la

actividad de bacterias que oxidan hierro y azufre (*Thiobacillus ferrooxidans*, *T. thiooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans*), las cuales convierten sulfuros metálicos insolubles (S₀) a sulfatos solubles y ácido sulfúrico (Bosecker, 2001). Esta disolución hace que los metales puedan recuperarse fácilmente de ambientes contaminados y suelos superficiales, usando estrategias de remediación de bombeo-tratamiento (Lovley, Coates, 1997).

Biotransformación:

Este es un proceso que involucra un cambio químico sobre el metal, por ejemplo, en el estado de oxidación o de metilación. Esta transformación biológica de metales tóxicos, mediada por enzimas microbianas, puede dar como resultado compuestos poco solubles en agua o bien compuestos volátiles. Un ejemplo de este proceso, es el ciclo natural del Hg, en el cual, ciertas bacterias pueden reducir el Hg²⁺ a Hg⁰, y otros organismos pueden luego metilarlo dando como producto formas orgánicas del mercurio, como CH₃Hg⁺ y (CH₃)₂Hg, que son volátiles y más tóxicas que el propio Hg. Otros ejemplos de este proceso son las reducciones de V(V) a V(III), Au(III) a Au(0) y Cr(VI) a Cr(III), lo cual conlleva a la precipitación del metal bajo condiciones fisiológicas.

Quimiosorción:

Con este término se describen las reacciones en las que los microorganismos mineralizan un metal, formando un depósito primario. Este depósito primario funciona

como núcleo de cristalización, con la consecuente deposición del metal de interés, promoviendo y acelerando así el mecanismo de mineralización. Un ejemplo de este proceso es la adición de Fe en un efluente, en presencia de BSR, las cuales producen sulfuros que precipitan en forma de cristales FeS, sobre la superficie celular. Los otros metales contaminantes pueden cristalizar sobre el FeS formado.

En los Estados Unidos, a partir de 1986, hubo un incremento significativo en el tratamiento de suelos contaminados. Sin embargo, hasta el momento, existen pocas alternativas comerciales para tratar metales en suelos, especialmente in situ. Uno de los tratamientos más frecuentemente seleccionado en el programa “Superfund”, ha sido la Solidificación/Estabilización (US EPA, 1997). Entre las tecnologías convencionales que se han usado para la limpieza de suelos contaminados con metales, se encuentran: la inmovilización (contención con el uso de barreras verticales u horizontales) la solidificación/estabilización [S/E] (vitrificación y microencapsulación), excavación y entierro, separación y concentración (lavado de suelos, inundación de suelos y pirometalurgia) y sistemas electrocinéticos (USEPA, 1997a; Prasad y Freitas, 2003).

En México al igual que en EE.UU., la mayor parte de los suelos contaminados están sometidos a tratamientos de remediación “in situ” (88%), más que tratamientos “ex situ” (12%). Del total de las empresas autorizadas para remediar suelos en México, más de la mitad emplean métodos biológicos, como el composteo y la biolabranza. El lavado de suelos, la oxidación química y la separación física constituyen otra parte importante de las tecnologías de remediación más empleadas. Ninguna empresa ofrece servicios

para la remediación de suelos contaminados con metales pesados (Volke y Velasco, 2002).

En Holanda, país pionero, se emplea una gama de técnicas de remediación, siendo la más común, la excavación, remoción y confinamiento fuera del sitio de los materiales contaminados (40 a 60% de los casos). Sin embargo, el confinamiento tendera a usarse cada vez menos en el futuro por dos razones: 1) el costo está incrementándose por los requerimientos ambientales que se han impuesto últimamente al confinamiento y 2) porque está previsto que el ministro del ambiente, prohíba la disposición de suelos contaminados en confinamientos se es técnicamente posible su limpieza. Holanda ha sido el líder en “biorremediación”, sobre todo fuera del sitio, aunque también ha empleado frecuentemente la incineración (Cortinas, 2002).

La Fitorremediación

El término “fitorremediación” (fito = planta y remediación = remediar), es relativamente nuevo y fue usado por primera vez en 1991. Entre las metodologías de limpieza para suelos contaminados por metales pesados, la técnica de “fitoextracción” a través de los tejidos de las plantas, presenta ventajas ecológicas y económicas. Esta opción de limpieza depende principalmente, de las condiciones del suelo y de la planta acumuladora (Pulfort y Watson, 1993). Para mejorar los procesos de “fitoextracción”, la biodisponibilidad del contaminante hacia las raíces, puede facilitarse a través de la adición de agentes acidificantes, de fertilizantes o quelatantes (Prasad y Freitas, 2003).

Agentes Quelatantes

Ciertos agentes quelatantes sintéticos, facilitan la disponibilidad de iones metálicos para el crecimiento de las plantas y durante largo tiempo se han empleado, para colocar disponibles los metales pesados a las planta. Así, el EDTA (ácidoetilendiaminotetracético), fue efectivo porque facilito la fitoextraccion de cadmio (Cd), cobre (Cu), níquel (Ni), plomo (Pb) y zinc (Zn) a la adición de 10 mmol kg⁻¹ de EDTA a un suelo contaminado con 1200 mg de Pb por kg⁻¹ de suelo, lo que resulto con una acumulación de 1.6% en tallos de *B. juncea*. El EDTA fue efectivo cuando se aplicó algunos días antes de cosechar las plantas (Blaylock *et al.* 1997). Sin embargo, estos agentes quelatantes (EDTA, DTPA, etc.), son costosos y difícil su adquisición, por lo que se hace necesaria la búsqueda de alternativas económica y ecológicamente factibles, para colocar los metales pesados disponibles a las plantas y así estar en posibilidades de remediar los suelos contaminados con estos materiales.

Los AH y AF incrementan la capacidad de intercambio catiónico (CIC) del suelo y la retención de humedad. Estimulan el desarrollo de la raíz, y a nivel foliar aumentan la permeabilidad de la membrana celular facilitando la absorción de nutrimentos, y son agentes naturales quelatantes de metales cationicos, por lo que son utilizados para la nutrición mineral de los cultivos debido a la acción acomplejante que ejercen sus grupos funcionales carboxílicos (COOH) e hidroxílicos (OH) (Molina, 2003).

Los AF y AH tienen efecto en la disponibilidad de metales en el suelo y aceleran la eficiencia de la fitoextracción. Además, no tiene efectos negativos como los quelatos sintéticos, como el EDTA ya que disminuyen seriamente el crecimiento de la planta, sin embargo, es un mayor esfuerzo el obtener estos en cantidades suficientes para utilizarlos en la fitorremediación (Evangelou *et al.* 2004).

En un experimento realizado por Heidmann (2004), se observó que en promedio el 81% de los AF fueron absorbidos a pH 4, y el 46% a pH 6 y solo el 17% a pH 8, respectivamente. Las SH pueden unirse a las superficies de los minerales por diversos mecanismos, incluyendo intercambio de ligadores, interacciones eléctricas, puentes por cationes y el agua e interacciones hidrofóbicas. La absorción de Pb en la superficie prenotada de grupos hidroxilo, es el más importante mecanismo de absorción. El Pb puede formar unión (puente catión) con AF formando un complejo. Altas concentraciones de Pb podrían inducir agregación de las moléculas de AF en solución, pero con cobre (Cu) no. Las moléculas de AF con alto peso molecular son adsorbidas por caolinitas, con la presencia de Pb y los AF de bajo peso molecular, permanecen en solución.

MATERIALES Y METODOS

Características Generales del Área

El experimento se llevó a cabo en el laboratorio de sustancias húmicas del Departamento de Ciencias del Suelo del *Campus* principal de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila México a los 25°21′13″ latitud norte, 101°02′01″ y a una altura de 1742 m.s.n.m. de acuerdo al global positions system (GPS) (Figura 1).

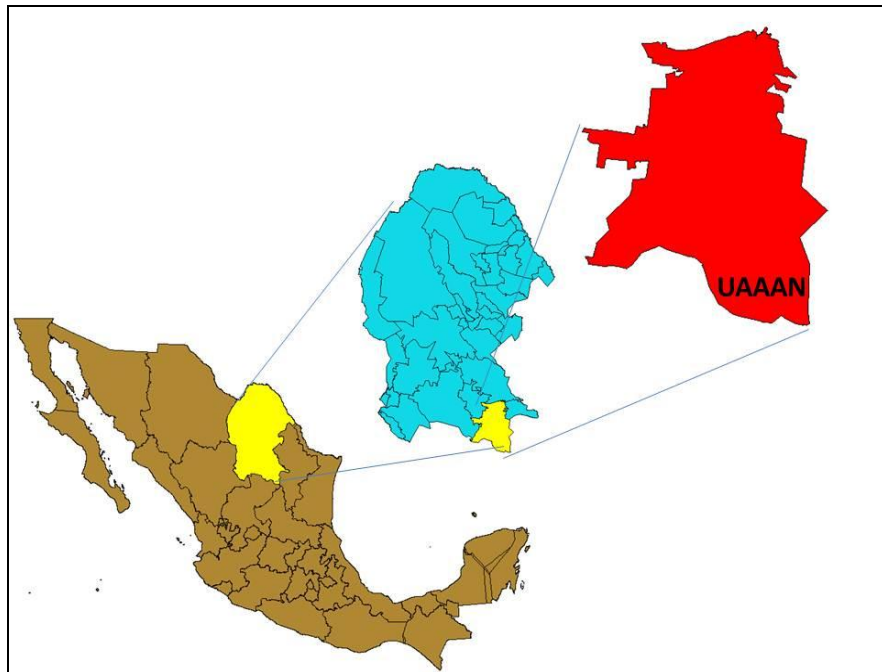


Figura 1. Mapa de localización de la zona de estudio

METODOLOGÍA

Para la realización del experimento, se utilizó un suelo contaminado con $839 \text{ mg Pb Kg}^{-1}$ de una “cama” de siembra del área experimental del Departamento de Ciencias del Suelo de *Campus* principal de la UAAAN. Al suelo se le determinaron algunas características físicas y químicas, las que se presentan en el Cuadro 2.

El experimento, consistió en colocar un kilogramo de un Calcisol seco, contaminado con plomo en macetas de plástico. A cada maceta se le agregaron 420 ml de agua bidestilada, mezclada con los tratamientos; esta cantidad sirvió para llevar el suelo a saturación. Los tratamientos fueron: 2 ml litro^{-1} , 4 ml litro^{-1} y 6 ml litro^{-1} de agua de un ácido húmico experimental (AHE) y uno comercial (AHC); así como, un ácido fúlvico experimental (AFE) y uno comercial (AFC); todos estos compuestos fueron obtenidos de Leonardita (Cuadro 3). Las adiciones fueron al inicio, a los 14 y a los 44 días después de establecida la experiencia. Las características de estas sustancias húmicas se presentan en el cuadro 4.

Al segundo día de iniciado el experimento, se aplicaron 70 ml de agua bidestilada y se colectaron los lixiviados. A los 15 y a los 45 días después de establecido el experimento, se realizó el mismo proceso anterior. Una vez colectados los lixiviados, se les midió el pH y el contenido de plomo (Espectrofotómetro de Absorción Atómica spectrAA VARIAN 5).

El trabajo fue distribuido de acuerdo a un Diseño Completamente al Azar, con tres repeticiones y el análisis estadístico consistió en el análisis de varianza (ANVA) y la

prueba de comparación de medias, mediante Tukey ($P \leq 0.05$), para lo cual se empleó el paquete para computador MINITAB versión 15 para WINDOWS.

Cuadro 2. Características físicas y químicas iniciales del suelo utilizado.

Característica	Resultado	Método
Densidad Aparente	1.10 g cm ⁻³	Probeta
Textura	Limo-arcillosa	Hidrómetro de Bouyoucous
Materia Orgánica	3.5%	Walkley and Black (1947)
Conductividad Eléctrica	0.22 dS m ⁻¹	Pasta de Saturación
pH	8.2	Potenciómetro (Relación 5:1 en agua)
Plomo Total	839 mg kg ⁻¹	NOM-147-SEMARNAT-1994
Carbonatos Totales	62%	

Cuadro 3. Tratamientos con su dosificación.

Número	Tratamientos	Dosis (ml.litro ⁻¹ de agua)
1	AHE	2
2	AHE	4
3	AHE	6
4	AHC	2
5	AHC	4
6	AHC	6
7	AFE	2
8	AFE	4
9	AFE	6
10	AFC	2
11	AFC	4
12	AFC	6
13	Testigo	0

Dónde:

AHE: Organicfield (CB Marketing Group S de R.L de C.V), ácidos húmicos experimentales de leonardita;
 AHC: Humitron® (Grupo Bioquímico Mexicano S.A de C.V), ácidos húmicos comerciales de leonardita;
 AFE: Organicfield (CB Marketing Group S de R.L de C.V), ácidos fúlvicos experimentales de leonardita;
 AFC: K-tionic® (Grupo Bioquímico Mexicano S.A de C.V.), ácidos fúlvicos comerciales de leonardita;
 Testigo: agua bidestilada.

Cuadro 4.- Acides total (AT) y grupos funcionales carboxilo (-COOH) y oxhidrilos (-OH), de sustancias húmicas extraídas de Leonardita.

Tipo de sustancia húmica	AT (cmol kg^{-1})	-COOH (cmol kg^{-1})	-OH (cmol kg^{-1})
AHE	200	10	190
AHC	100	10	90
AFE	1275	560	715
AFC	1200	60	1140

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el contenido de plomo de los lixiviados del suelo contaminado, después de un día de aplicados los tratamientos, hay efecto altamente significativo de los tratamientos, con el 95 por ciento de confianza (Cuadro 5). Al adicionar los ácidos húmicos experimentales y comerciales; así como, los ácidos fúlvicos experimentales y el testigo absoluto, en todas sus dosis, la cantidad de plomo en los lixiviados, no sobrepasaron $0.3 \text{ mg litro}^{-1}$; sin embargo, al aplicar los ácidos fúlvicos comerciales, conforme aumentó la dosis de este compuesto orgánico, la cantidad extraída de plomo del suelo contaminado, también se incrementó. Así, al agregar 6 ml litro^{-1} de agua de los ácidos fúlvicos comerciales (AFC6), se aventajó al testigo en 400 por ciento (Figura 2).

Cuadro 5. Análisis de varianza del contenido de plomo de lixiviados, en el primer muestreo, al adicionar sustancias húmicas de Leonardita.

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Tratamientos	12	2.71173	0.22598	44.38	0.000**
Repetición	2	0.00486	0.00243	0.48	0.626
Error	24	0.12221	0.00509		
Total	38	2.83880			

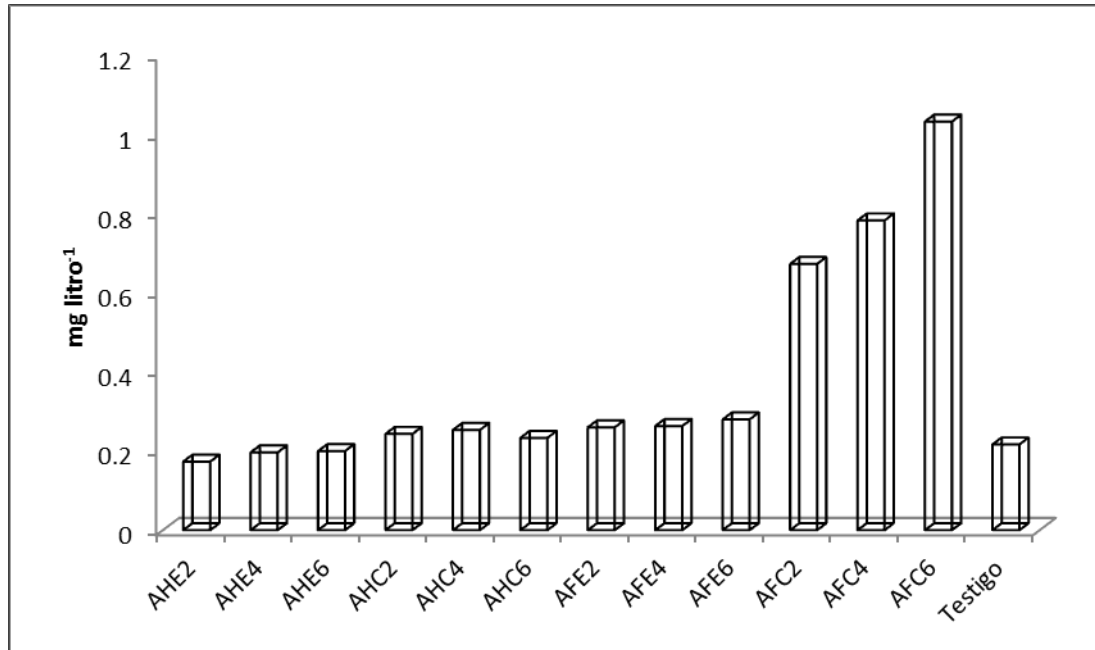


Figura 2. Contenido de plomo de los lixiviados de un suelo contaminado con plomo, con la adición de sustancias húmicas de Leonardita, a los 2 días de establecido el experimento.

Después de 14 días de adicionados los tratamientos, éstos realizaron efecto altamente significativo, con el 95 por ciento de confianza (Cuadro 6). Al adicionar los ácidos húmicos experimentales a la dosis 6 ml litro⁻¹ de agua, el valor fue de 0.46 mg litro⁻¹; mientras que a la dosis baja y la media, el valor fue de 0.43 mg litro⁻¹. Al agregar los ácidos húmicos comerciales; así como los ácidos fúlvicos experimentales y el testigo absoluto, en todas sus dosis, la cantidad de plomo extraída no sobrepasó 0.4 mg litro⁻¹. Con la adición de la dosis alta de los ácidos fúlvicos comerciales (AHC6), el valor fue de 0.6 mg litro⁻¹ de agua, en tanto que a la dosis baja y a la media el valor fue de 0.36 mg litro⁻¹, aventajó al testigo absoluto en 130 por ciento (Figura 3).

Cuadro 6. Análisis de varianza del contenido de plomo de lixiviados, en el segundo muestreo, al adicionar sustancias húmicas de Leonardita.

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Tratamientos	12	0.389231	0.032436	4.87	0.000**
Repetición	2	0.006667	0.003333	0.50	0.613
Error	24	0.160000	0.006667		
Total	38	0.555897			

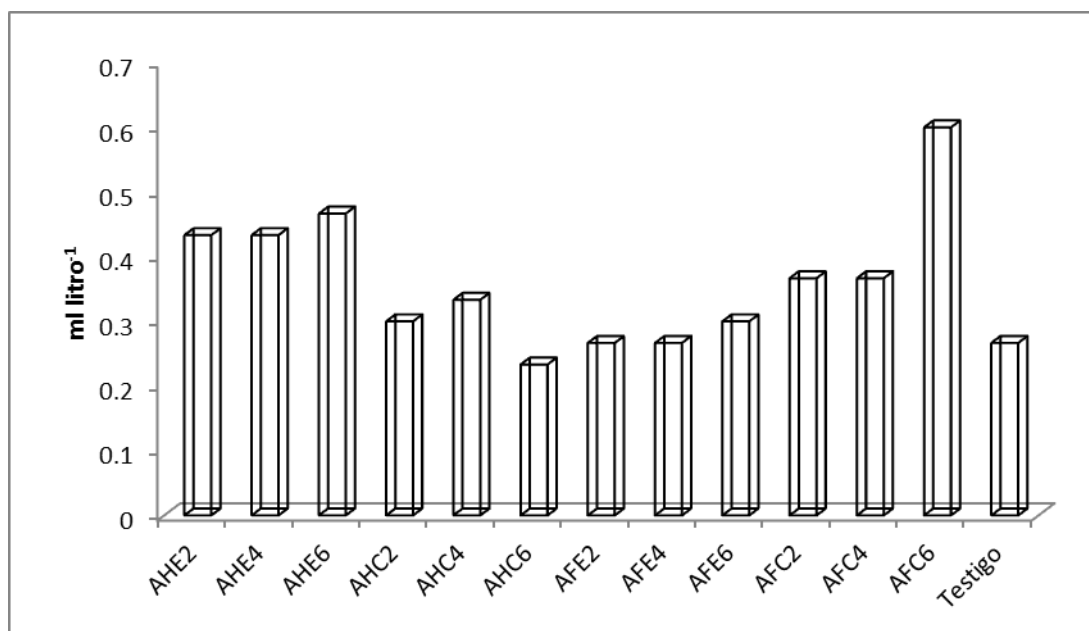


Figura 3. Contenido de plomo de los lixiviados de un suelo contaminado con plomo, con la adición de sustancias húmicas de Leonardita, a los 15 días de establecido el experimento.

Para el muestreo final, en el contenido de plomo de los lixiviados del suelo contaminado, hay efecto altamente significativo de los tratamientos, con el 95 por ciento de confianza (Cuadro 7). Al aplicar los ácidos húmicos experimentales y comerciales; así como los ácidos fúlvicos experimentales y el testigo absoluto, en todas sus dosis, la cantidad de plomo en los extractos no sobrepasaron 0.4 mg litro⁻¹; sin embargo, al agregar los ácidos fúlvicos comerciales, conforme aumentó la dosis, la cantidad extraída de plomo del suelo contaminado, también se incrementó. De esta manera, al adicionar 6

ml litro⁻¹ de agua de los ácidos fúlvicos comerciales (AFC6), se aventajó al testigo en 83 por ciento (Figura 4).

Cuadro 7. Análisis de varianza del contenido de plomo de lixiviados, en el tercer muestreo, al adicionar sustancias húmicas de Leonardita.

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Tratamientos	12	0.742564	0.061880	11.72	0.000**
Repetición	2	0.006667	0.003333	0.63	0.540
Error	24	0.126667	0.005278		
Total	38	0.875897			

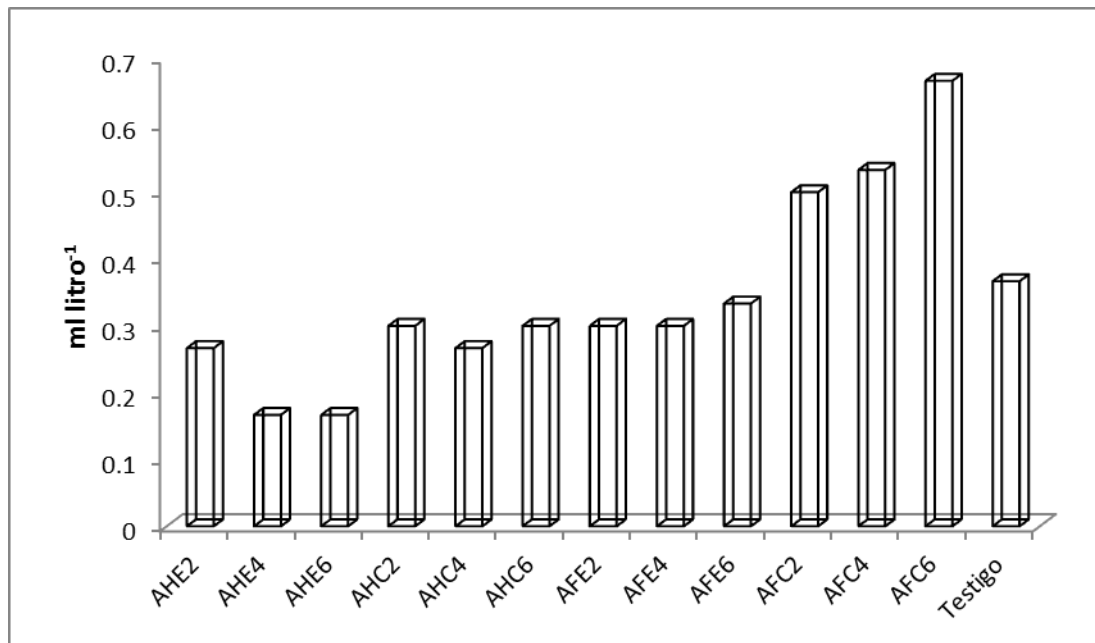


Figura 4. Contenido de plomo de los lixiviados de un suelo contaminado con plomo, con la adición de sustancias húmicas de Leonardita, a los 45 días de establecido el experimento.

El contenido de materia orgánica (M.O) del suelo, antes de iniciar el experimento, fue de 3.5 por ciento. Al término de éste la cantidad fue superior a este valor al adicionar los tratamientos; pero, al aplicar los ácidos fúlvicos experimentales, a la dosis de 4 ml litro⁻¹ de agua, el valor fue el más inferior. De forma particular, cuando

se agregaron los ácidos húmicos experimentales, a la dosis más baja, el valor de la MO fue de cuatro por ciento; a la dosis media disminuyó el valor y aumentó a la cantidad más alta. La aplicación de la dosis media de los ácidos húmicos comerciales (AHC), superó a la alta y la baja en esta variable. Con la agregación de la dosis alta de los ácidos fúlvicos experimentales (AFE6), se presentó la superior cantidad de la MO ya que sobrepasó en cinco por ciento. Conforme aumentó la dosis de los ácidos fúlvicos comerciales, incrementó también el valor de la MO (Figura 5).

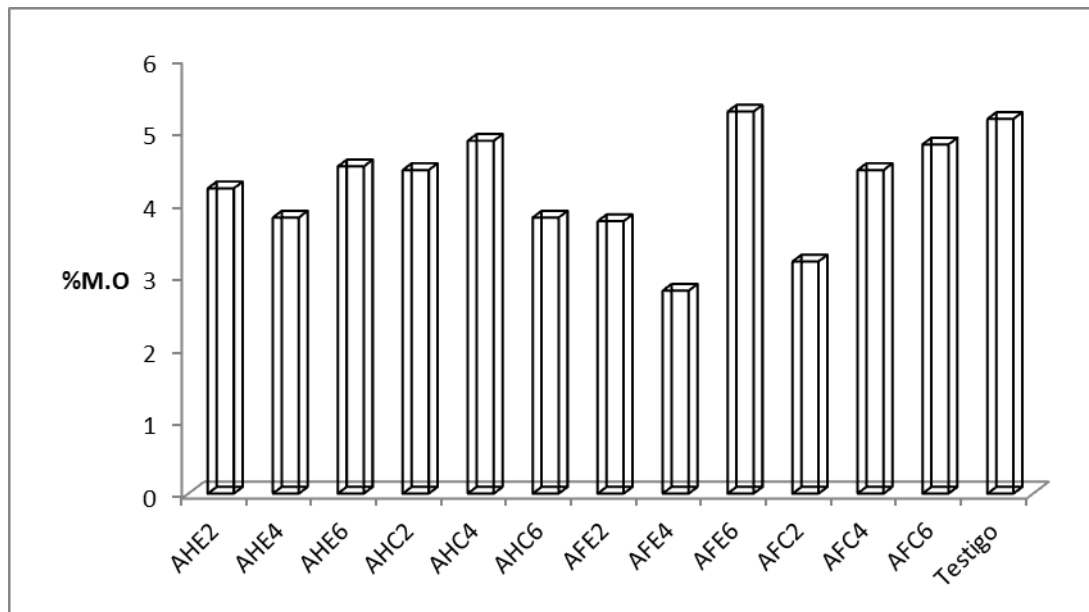


Figura 5. Contenido de materia orgánica de un suelo contaminado con plomo, al adicionar sustancias húmicas de Leonardita, al final de la experiencia.

De forma general el pH del suelo, antes de iniciar el experimento, fue de 8.2; al finalizar de la experiencia, fue inferior al adicionar los tratamientos. De manera particular, al aplicar los ácidos fúlvicos comerciales a la dosis de 6 ml litro^{-1} de agua el valor fue el más elevado. Así, cuando se agregaron los ácidos húmicos experimentales a la dosis más baja, el pH fue de ocho; a la dosis media disminuyó el valor y aumentó a la cantidad más

alta del compuesto orgánico. La aplicación de los ácidos húmicos comerciales a las dosis media y alta, conservaron el mismo valor inicial; mientras que con la dosis baja disminuyó. Con la agregación de los ácidos fúlvicos experimentales, a la dosis media el valor del pH fue de 8; en tanto a la dosis baja y la alta presentaron el mismo valor. Conforme aumentó la dosis de los ácidos fúlvicos comerciales, aumentó también el valor del pH (Figura 6).

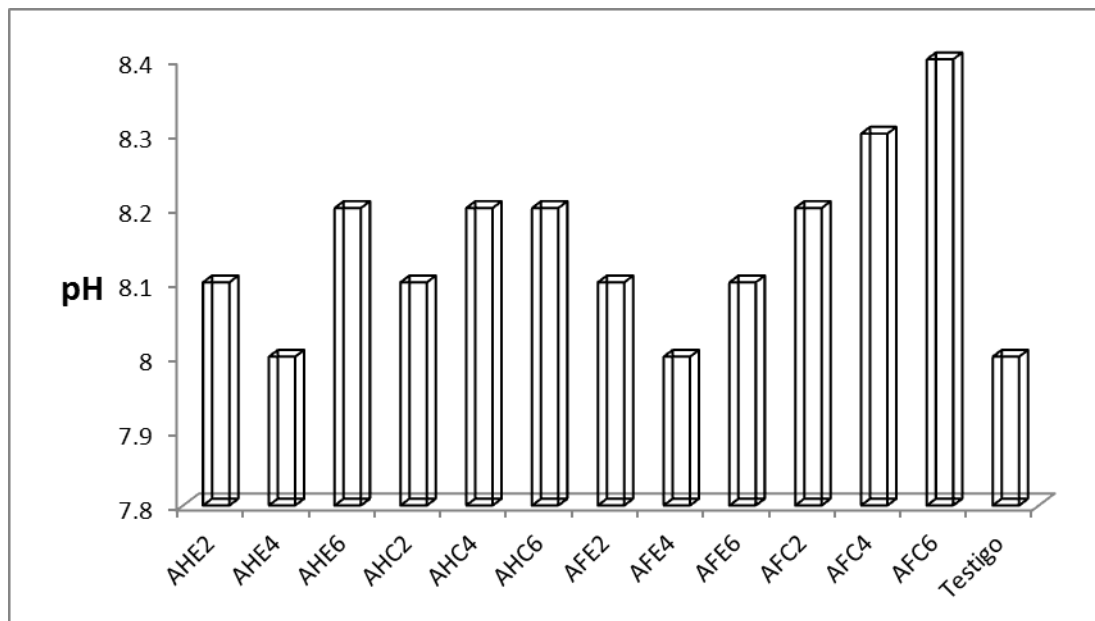


Figura 6. Comportamiento del pH de un suelo contaminado con plomo, al adicionar sustancias húmicas de Leonardita, al final de la experiencia.

De forma general, la conductividad eléctrica al inicio del experimento fue de 0.22 dS m^{-1} ; finalizado este los valores de esta variable disminuyeron al aplicar los tratamientos. De manera particular, al agregar la dosis alta de los ácidos fúlvicos comerciales (AFC6), el valor fue el más elevado. Al agregar los ácidos húmicos experimentales a la dosis 2 ml litro^{-1} la conductividad eléctrica fue de 0.081 dS m^{-1} ; a la

dosis media disminuyó el valor y a la dosis alta se incrementó el mismo. Con la adición de los ácidos húmicos comerciales a la dosis baja (AHC2) el valor fue de 0.080 dS m^{-1} ; mientras que a la dosis media y a la alta el valor aumentó. Los valores más bajos para esta variable se obtuvieron al aplicar los ácidos fúlvicos experimentales en todas sus dosis junto con el testigo. Así al añadir la dosis media y la alta de los ácidos fúlvicos comerciales se obtuvieron los valores más altos de la misma, en tanto que la dosis 2 ml litro^{-1} de agua del tratamiento dio un valor de 0.087 dS m^{-1} (Figura 7).

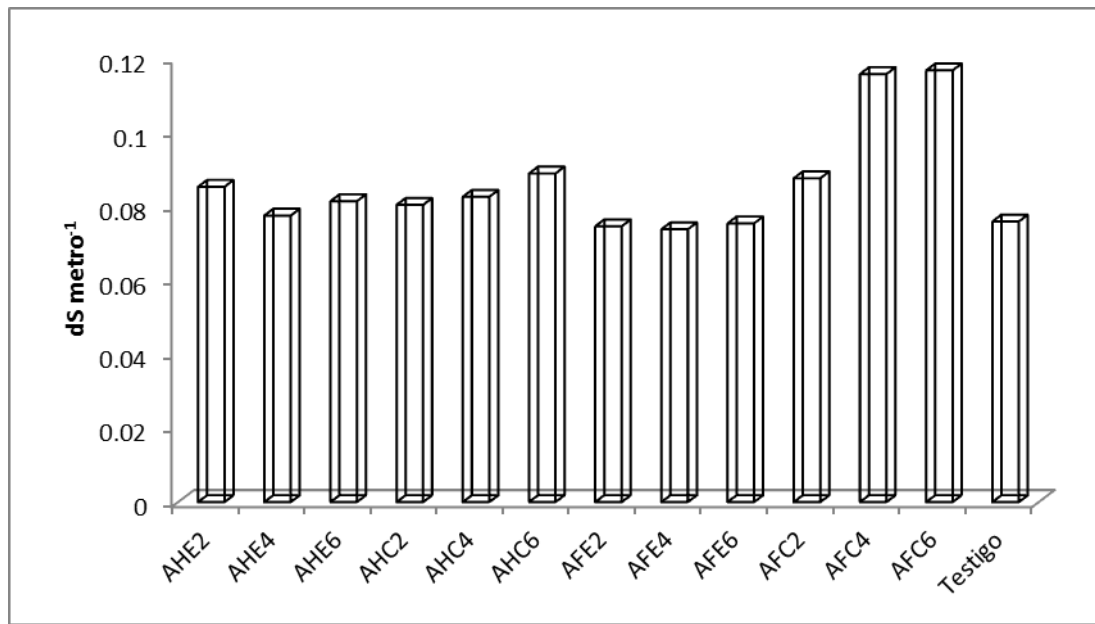


Figura 7. Comportamiento de la conductividad eléctrica de un suelo contaminado con plomo, al adicionar sustancias húmicas de Leonardita, al final de la experiencia.

El pH de los lixiviados, presentó el comportamiento siguiente: después de un día de aplicar los ácidos húmicos experimentales (AHE), los valores fueron superiores a 7.6; de ahí, a los 15 días después de adicionados, las cantidades bajaron considerablemente; pero cuando se midió a los 45 días de establecido el experimento, las cantidades subieron hasta ser muy alcalinos los lixiviados. Cuando se agregaron los ácidos

húmicos comerciales (AHC), a la dosis más baja (AHC2), es decir, a la dosis de 2 ml litro⁻¹ de agua, el comportamiento fue similar a la adición de los AHE; pero, con la agregación de las otras dos dosis, a los 15 y 45 días disminuyó, con relación al primer día después del inicio de la investigación (figura 8).

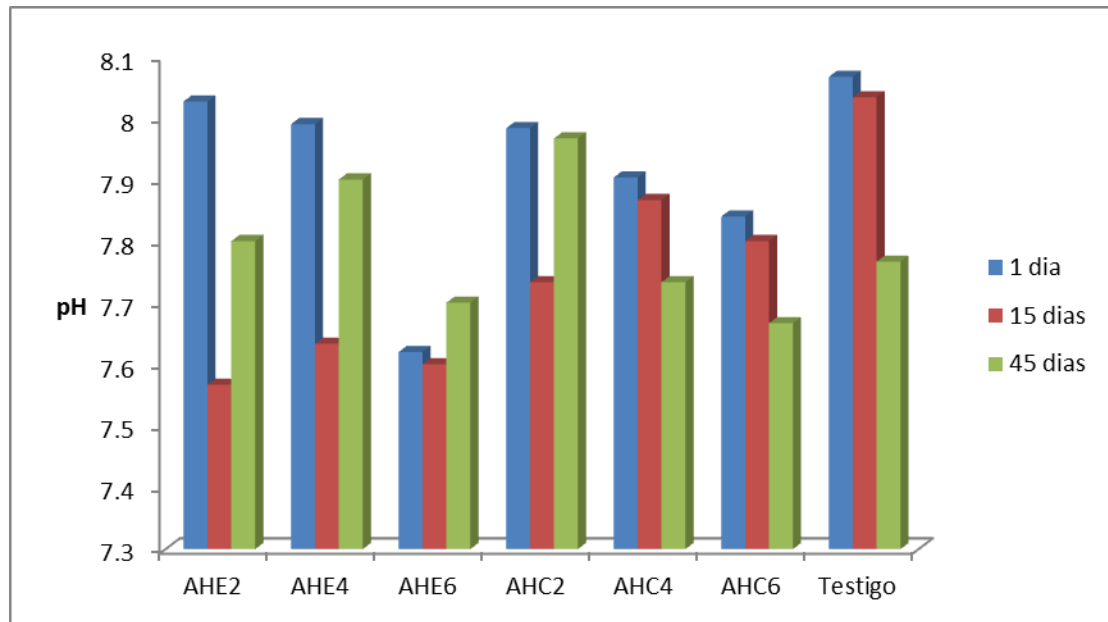


Figura 8. Comportamiento del pH de lixiviados de un suelo contaminado con plomo, al adicionar ácidos húmicos de Leonardita, en función del tiempo.

Al adicionar los ácidos fúlvicos experimentales (AFE), a las tres dosis, los valores de pH disminuyeron, conforme aumentaron los días de aplicados los compuestos orgánicos. Al aplicar las tres dosis de los ácidos fúlvicos comerciales (AHC), el comportamiento fue que los valores de esta característica fue alcalino al primer día de medición; conforme aumentó el tiempo, esto es a los 15 días, los valores aumentaron más y a los 45 días, después de iniciado el experimento, los valores se redujeron (Figura 9).

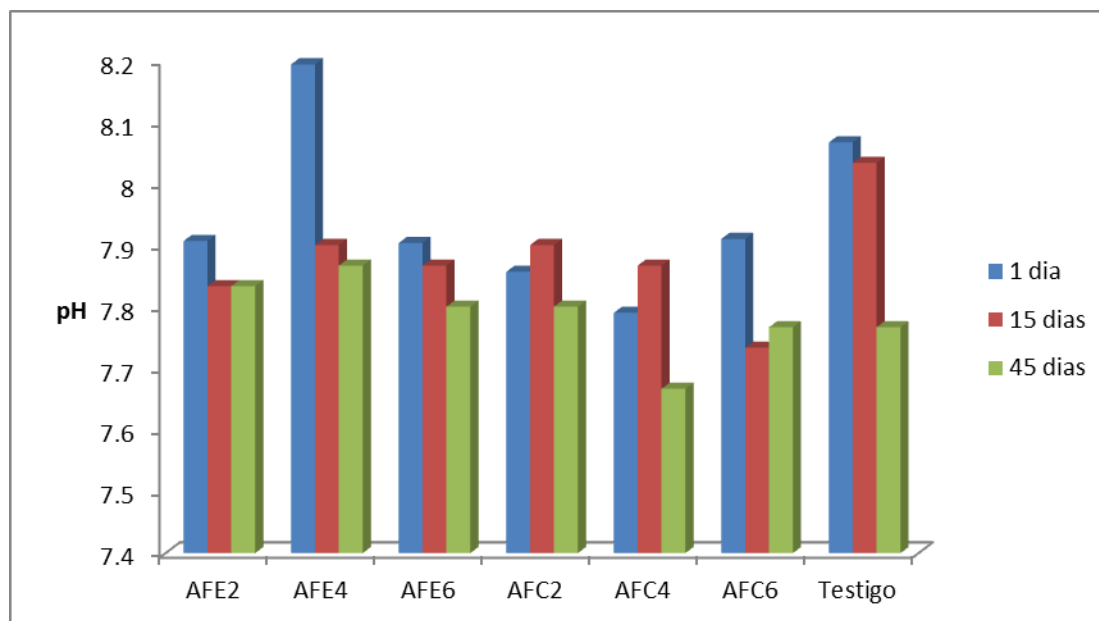


Figura 9. Comportamiento del pH en los lixiviados de un suelo contaminado con plomo, al adicionar los ácidos fúlvicos de Leonardita, en función del tiempo.

La cantidad de plomo extraído, al adicionar la dosis baja de los ácidos húmicos experimentales (AHE2), bajó a los 15 días, con respecto al primer día de aplicados los compuestos orgánicos y aumentó la cantidad a los 45 días. Cuando se adicionaron las dosis media y alta de estos mismos compuestos (AHE4 y AHE6), los contenidos de plomo de los lixiviados, aumentaron a los 15 días con relación al primer día y se redujeron considerablemente a los 45 días. Estos fueron los valores más bajos. Al agregar 2 y 4 ml litro^{-1} de agua de los ácidos húmicos comerciales (AHC2 y AHC4), las cantidades de plomo fueron de $0.2 \text{ mg gramo}^{-1}$ de suelo en el primer día de establecido el experimento; de ahí hasta los 15 días, los valores subieron; pero a los 45 días, éstos se redujeron; mientras que al aplicar la dosis alta de estos compuestos, los valores avanzaron a los 15 y 45 días, después de iniciada la experiencia (Figura10).

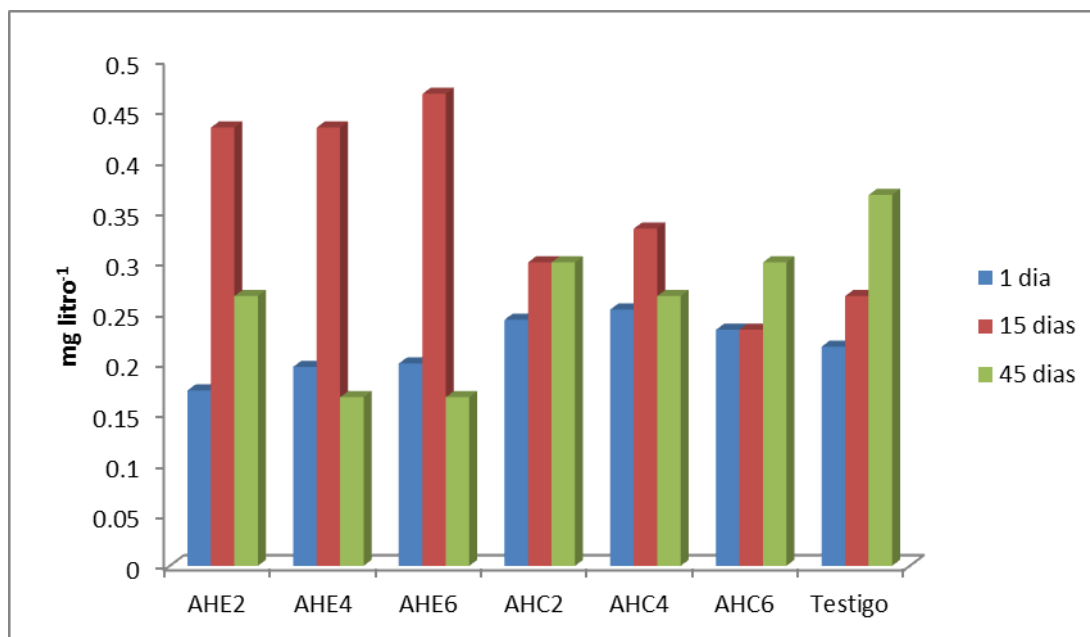


Figura 10. Cantidad de plomo extraído de un suelo contaminado, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita, en función del tiempo.

Cuando se agregaron las tres dosis de los ácidos fúlvicos experimentales (AFE2, AFE4 y AFE6), las cantidades de plomo aumentaron a los 15 y 45 días, respectivamente, después de iniciada la investigación, con respecto al día inicial. Con la aplicación de las tres dosis de los ácidos fúlvicos comerciales (AFC2, AFC4 y AFC6), se tiene que los valores de plomo, en los lixiviados, a los 15 días disminuyeron con relación al primer día y a partir de aquí, aumentaron; es decir, a los 45 días después de iniciada la experiencia (Figura 11).

En esta misma Figura, se presenta que al día de iniciado el experimento, el contenido de plomo del lixiviado del testigo fue 400 por ciento inferior, a donde se aplicaron 6 ml liter⁻¹ de agua de los ácidos fúlvicos comerciales (AFC6). A los 15 días de iniciado el experimento, los valores de plomo del tratamiento aumentaron con

relación al testigo y esto fue, que con el tratamiento se superó al testigo en 100 por ciento. Al aplicar el compuesto orgánico, a la dosis comentada, con este se adelantó al testigo en 133 por ciento.

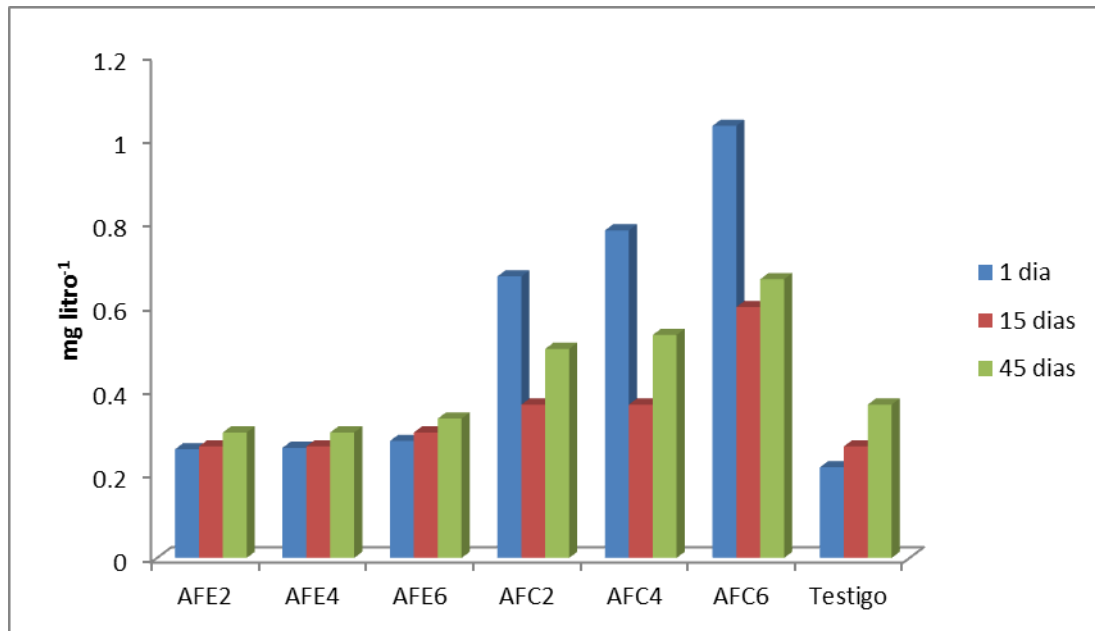


Figura 11. Cantidad de plomo extraído de un suelo contaminado, con la adición de los ácidos fúlvicos de Leonardita, en función del tiempo.

A manera de discusión en base a los resultados, se tiene que el pH y la conductividad eléctrica del suelo disminuyeron al aplicar los tratamientos, cuyos valores más altos se obtuvieron al aplicar las dosis media y alta del ácido fúlvico comercial, esto debido a la alcalinidad de este compuesto orgánico.

La extracción de plomo en los tres muestreos se observó más alta al aplicar los ácidos fúlvicos comerciales a la dosis de 6 ml liter⁻¹, lo cual quiere decir que los grupos funcionales libres carboxilos (-COOH) del compuesto orgánico quelataron y/o complejaron a este elemento traza y durante el proceso de lavado, fue eliminado del

suelo. Similares resultados encontró Yegros (2008) al aplicar K-tionic para extraer plomo de un suelo salino-sódico.

En un trabajo realizado por Hernández y Peña (2010), usando EDTA sódico, excreta de lombriz, K-tionic, Fulvato de Fe y ácido fúlvico con el propósito de aumentar la disponibilidad del plomo, encontraron que en la extracción secuencial por el método de Tessier, el tratamiento con EDTA fue el que incremento la movilidad de plomo en más de 17.5 mg kg^{-1} con respecto al testigo, esto representa la fracción soluble e intercambiable, y el tratamiento que presento menor movilidad fue el del ácido fúlvico. Debido a que el suelo empleado en el presente trabajo contiene grandes cantidades de carbonatos, el plomo se une principalmente a este compuesto por lo que disminuye su movilidad, los resultados en el presente trabajo muestran que los ácidos húmicos como fúlvicos presentan los resultados más altos a corto plazo; sin embargo tienden a disminuir con el tiempo y los ácidos experimentales de valores bajos de movilización de plomo, tienden a mantenerse o aumentan ligeramente a través del tiempo, esto nos indica que con el uso de agentes quelatantes se puede ayudar a movilizar el plomo y ponerlo disponible para la planta; resultados semejantes encontraron Peña *et al*: (2008).

CONCLUSIONES

Los ácidos fúlvicos experimentales, de forma general, aumentan la extracción de plomo del suelo contaminado, en función del tiempo; mientras que de forma particular, 6 ml litro⁻¹ de agua del ácido fúlvico comercial, lo efectuaron.

Los agentes quelatantes tienen diferente tiempo de actividad lo que se demuestra por el hecho de que algunos quelatos movilizaron el plomo a corto tiempo y en otros casos se mantuvo o aumentaron las cantidades de plomo en los extractos.

LITERATURA CITADA

- Adriano D. C. 1990. Bioengineering of Trace Metals. Advances in Trace Substances Research. Lewis, Boca Raton, F1. 513.
- Aleksandrova I. V. 1994. Interactions of structural units and the strength fixation in molecules of humic-like substances. Eurasian Soil science.
- Baird C. 1999. Environmental Chemistry. 2nd Ed. W.H. Freeman & Company.
- Barkay, T. y J. Schaefer. 2001. Metal and radionuclide bioremediation: issues, considerations and potentials. *Current Opinion in Microbiology*. 4: 318-323.
- Becerril, J. y Navarrete, M.E. 1993. Recopilación, aplicación y evaluación de las tecnologías de estabilización/solidificación para el tratamiento de residuos peligrosos. *CENAPRED. Coordinación de Investigación*. 96 pp.
- Bernal M. P. 1997. Apuntes. Departamento de Conservación del Suelo y Aguas y Manejo de Residuos Orgánicos de Edafología y Biología Aplicada del Segura. Consejo Superior de Investigación Científica (CSIC). Murcia, España.
- Blaylock M. J., D. E. Salts, S. Dushenkov O., C. Gussman, Y. Kapulnik, B. D. Ensley and I. Raskin. 1997. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. *Environ Sci. Tech.*
- Bosecker, K. 2001. Microbial leaching in environmental clean-up programs. *Hydrometallurgy*. 59: 245-248.
- Burt R., Wilson M. A., Keck T. J., Dougherty B. D., Strom D. E., Lindahl J. A. 2003. Trace Element Speciation in Selected Smelter-Contaminated Soils in Anaconda and Deer Lodge Valley, Montana, USA. *Advances in Environmental Research*, 8, pp. 51-67.
- Cortinas de N. C. 2002. Marco Conceptual de la Remediación de Sitios Contaminados. Secretaría del medio ambiente y Recursos Naturales. Proyecto de Desarrollo Institucional para la Gestión de Sitios Contaminados PN:99.21.34.3. México.
- Chandler, A.J.; Eighmy, T.T.; Hartlén, J.; Hjelm, O.; Kosson, D.S.; Sawell, S.E. van der Sloot, H.A. and J. Vehlow. 1997. Municipal Solid Waste Incinerator Residues. *Studies in Environmental Science* 67. *Elsevier Science*. 975 pp.
- Eccles, H. 1999. Treatment of metal-contaminated wastes: why select a biological process? *Trends in Biotechnology*. 17: 462-465.

- Evangelou M. W. H. Hactice, D. Andreas, S. 2004. The Influence of Humic Acids on the Phytoextraction of Cadmium from Soil. *Chemosphere*. 57 207-213.
- Diario Oficial Federación. 2005. NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, Diario Oficial Federación. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Viernes 11 de noviembre de 2005. México D.F. Pag 19, 20, 25, 23.
- FAO/UNESCO. 1994. World Reference Base for Soil Resources. Wageningen/Rome.
- Freeman, M. H. 1998. Standard handbook of hazardous waste treatment and disposal. Second edition. *McGraw-Hill*. 1437 pp.
- Gadd, G.M. 2000. Bioremedial potential of microbial mechanisms of metal mobilization and immobilization. *Current Opinion in Biotechnology*. 11: 271-279.
- García I., Dorronsoro C. 2002. Contaminación por metales pesados. Departamento de edafología y química agrícola de España.
- García, I., Dorronsoro, C. 2005. Contaminación por Metales Pesados. En Tecnología de Suelos. Universidad de Granada. Departamento de Edafología y Química Agrícola. <http://edafologia.ugr.es/conta/tema15/introd.htm>
- Galán H. E., Romero B. A. 2008. Conferencia. Contaminación de Suelos por Metales Pesados. Departamento de Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola. Facultad de Química. Apartado 553. Universidad de Sevilla.
- Gulson B.L., Mizon K.J., Korsch M.J. & Howarth D. 1996. Non-orebody sources are significant contributors to blood lead of some children with low to moderate lead exposure in a mayor mining community. *The science of the total environment*. 181: 223-230.
- Han F. X., Banin A., Kingery, W. L., Triplett, G. B., Zhou L. X., Zheng S. J., Ding W. X. 2003. New approach to studies of Heavy Metal Redistribution in soil. *Advances in Environmental Research*, 8, pp. 113-120.
- Harter R. D. and R. Naidu. 1995. Roll of metal-organic complexation in metal sorption by soils, in *advances in Agronomy*. (Ed). D. L. Sparks.
- Heidmann I. 2004. Influence of fulvic acid on ion binding and colloidal stability of kaolinite particles. doctor of natural sciences. Swiss Federal Institute of Technology Zúrich. Diss. ETH. No. 15531. Germany.
- Hernández T. I., Peña C. E. 2010. Extracción Secuencial de Plomo de un Suelo Contaminado. Mesa Química de Suelos y Contaminación. XXXV congreso nacional de la ciencia del suelo. Mexicali, Baja California, México.

- Kabata – Pendias A., Kabata – PendiasKh. 1989. Macroelements in the soil and plants. Myr., Moskva (in Russian).
- Kabata-Pendias A., Pendias H. 2001. Trace elements in soils and plants CRC. Press, Florida.
- KabataPendias A. 1995. Agricultural problems related to extensive trace metal contents of soil.
- Kennish, M.J. 1992. Ecology of Estuaries: Anthropogenic Effects. CRP Press, Inc., Coca Raton, FL McCullough, J., Hazen, T.C., Benson, S.M., Metting, F.B., and Palmisano, A.C. Bioremediation of Metals and Radionucleids.
- Ko, S.-O.; Schlautman, M. A y Carraway, E. R. 2000. Cyclodextrin-enhanced electrokinetic removal of phenantrene from a model clay soil. *Environ. Sci. Technol.* 34: 1535-1541.
- Leyval C. Weissenhorn I., Glashoff A., and Berthelin J. 1994. Influence des metaux lourds sur la germination des spores de champignons endomycorrhizien an arbuscules dans les sols. *Acta Botánica Gallica* (in press).
- Lloyd J. R., and Lovley D. R. 2001. Microbial Detoxification of metals and radio nuclides, current Opinion in Biotechnology.
- López C. R. 2002. Comportamiento de sustancias Húmicas de Diverso Origen en la Física de un Suelo Limo-Arcilloso y en la Fisiología del Tomate. Tesis Doctoral en Sistemas de Producción. “Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro”. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- Lovley, D.R. y J.D. Coates. 1997. Bioremediation of metal contamination. *Current Opinion in Biotechnology*. 8: 285-289
- Meléndez G. 2003. Taller de abonos orgánicos. Residuos orgánicos y la materia orgánica del suelo. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE).
- Molina E. 2003. Taller de abonos orgánicos. Quelatos como fertilizantes. Centro Agronomico Tropical de Investigacion y Enseñanza (CATIE).
- NORMA Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, Que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 2 de Marzo del 2007.

- Pagnanelli F., Moscardini E., Giuliano V., Toro L. 2004. Sequential Extraction of Heavy Metals in River Sediments of an Abandoned pyrite Mining Area: Pollution Detection and Affinity Series. *Environmental Pollution*, 132, pp.
- Peña C. E., Hernandez T. I., López C. R., Gonzales A. T. 2008. Quelatos y Fitoextracción de Plomo en un Calcisol contaminado. *Libro Científico Anual; Agricultura, Ganadería y Ciencia Forestal*. UAAAN. Saltillo, Coahuila, Mexico.
- Prasad, M.N. y Freitas, H.M. 2003. Metal hyperaccumulation in plants - biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electronic Journal of Biotechnology*. 6 (3): 285 - 321.
<http://www.ejbiotechnology.info/content/vol6/issue3/full/6>
- Puga S., Sosa M. Lebgue T., Quintana C., Campos A. 2006. Contaminación por metales pesados en suelo provocada por la industria minera. Departamento Académico de Biología, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima – Perú.
- Pulfor I. D. y Watson C. 1993. *J. Environ. Inten.* 29:529-540.
- Riser-Roberts, E. 1998. Remediation of petroleum contaminated soils. *Lewis Publishers*. USA
- Rulkens, W.H., Grotenhuis, J.T.C. & Tichy, R. 1995. Methods for cleaning contaminated soils and sediments. In "Heavy Metals", W. Salomon's, U. Förstner and P. Mader, eds. Springer-Verlag, Berlin, 165-191.
- Sauquillo A., Rigol A., and Rauret G. 2003. Overview of the use of Leaching/Extraction Test for Risk Assessment of Trace Metals in Contaminated Soils and Sediments. *Trends in Analytical Chemistry*, 22, pp. 152-159.
- Sauve, S., W. Henderson, and H. E. Allen. 2000. Solid-Solution Partitioning of Metals in Contaminated Soils: Dependence on pH, Total Metal Burden, and Organic Matter. *Environ. Sci. Technol.* 34:1125–1131.
- Seoáñez Calvo M. 1999. Contaminación del suelo. Estudios, tratamiento y gestión editorial Mundi-Prensa, México.
- Schnitzer M. 1978. Humic Substances: Chemistry and Reactions: in Soil Organic Matter. (Ed). Schnitzer and Khan. Soil Organic Matter. Elsevier, Amsterdam.
- Schnitzer M., H. R. Schulten. 1995. Analysis of Organic Matter in Soil Extracts and Whole Soils by pyrolysis-Mass Spectrometry. *Advances in Agronomy*.
- Schmitt H. W. and Sticher H. 1991. Heavy Metals compounds in the soil. In: Marina, E. (ed): Metals and their Compounds in the Environment, VCH Verlagsgesellschaft Weinheim, Germany.

- Spain, A. 2003. Implications Of Microbial Heavy Metals Tolerance in the Environment. Reviews In Undergraduate Research, 2,1-6.
- Stevenson F. L. and M. Schnitzer. 1982. Transmission Electron Microscopy of Extracted Fulvic and Humic Acids. SoilSci.
- Volke S. T., Velasco T. J. A., 2002. Tecnologías de remediación para suelos contaminados. INE-SEMARNAT. México
- Volke S. T., Velasco T. J. A., De La Rosa A., Solórzano O. G. 2004. Evaluación de tecnologías de remediación para suelos contaminados con metales. Dirección de Investigación en Residuos y Sitios Contaminados Subdirección de Investigación en Sitios Contaminados y Sustancias Tóxicas INE-SEMARNAT. México.
- Volke S. T., Velasco T. J. A. y De la Rosa A. 2005. Suelos contaminados por Metales y Metaloides: muestreo y alternativas para su remediación. S y G. Editores, S.A de C.V., Mexico, D.F. ISBN: 968-817-492-0.
- Yano Y., W. H. McDowel and N. E. Kinner. 1998. Quantification of Biodegradable Dissolved Organic Carbon in Soil Solution whit Flow-Through Bioreactors. Soil Sci. Soc. Am. J. 62:1556-1564. Wang, Z., Y. Xu and Z.
- Yegros D. C. 2008. Uso de Substancias Húmicas de Leonardita en la Remediación de un Suelo Salino-Sódico Contaminado con Plomo. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México.
- U.S. Environmental Protection Agency. 1996. *A Citizen's Guide to In Situ Soil Flushing*, Technology Fact Sheet, EPA/542/F-96/006.
- U.S. Environmental Protection Agency. 1997. Recent developments for in situ treatment of metal contaminated soils. Office of Solid Waste and Emergency Response. *Technology Innovation Office*. Washington D.C. 48 pp.
- Van Cauwenberghe, L, *Electrokinetics*. 1997. Ground Water Remediation Technologies Analysis Center, Pittsburg SA. Pp 21.
- Van Deuren, J.; Wang, Z. y Ledbetter, J. 1997. Remediation Technologies Screening Matrix and Reference Guide. 3^a Ed. *Technology Innovation Office*, EPA. <http://www.epa.gov/tio/remed.htm>.
- Volesky, B y Z.R. Holan. 1995. Biosorption of heavy metals. *Biotechnology Progress*. 11 (3): 235-250.

