

**ESPECIACIÓN QUÍMICA Y FITOEXTRACCIÓN DE PLOMO DE  
UN SUELO CONTAMINADO POR ACTIVIDAD INDUSTRIAL**

**JAIME TIMOTEO GONZÁLEZ ALVARADO**

**TESIS**

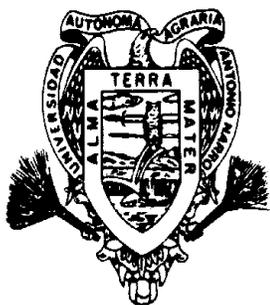
**Presentada como requisito parcial**

**Para obtener el grado de**

**Maestro en Ciencias del Suelo**

**Universidad Autónoma Agraria**

**Antonio Narro**



**PROGRAMA DE GRADUADOS**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.**

**JUNIO DE 2010**

# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

**ANTONIO NARRO**

DIRECCIÓN DE POSGRADO

**ESPECIACIÓN QUÍMICA Y FITOEXTRACCIÓN DE PLOMO DE  
UN SUELO CONTAMINADO POR ACTIVIDAD INDUSTRIAL**

TESIS

POR

**JAIME TIMOTEO GONZÁLEZ ALVARADO**

Elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada como  
requisito parcial, para optar al grado de

**MAESTRO EN CIENCIAS DEL SUELO**

**COMITÉ PARTICULAR**

Asesor principal:

\_\_\_\_\_  
Dr. Edmundo Peña Cervantes.

Asesor:

\_\_\_\_\_  
Dr. Rubén López Cervantes.

Asesor:

\_\_\_\_\_  
Dr. Alejandro Zermeño González.

\_\_\_\_\_  
Dr. Jerónimo Landeros Flores  
Director de Posgrado

Buenavista, Saltillo, Coahuila. Junio de 2010.

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por la oportunidad y el apoyo brindado.

Al M.C. Javier Santiago Silveyra Medina (QEPD), el cual me alentó para continuar mi desarrollo académico a través de este posgrado.

Al Dr. Edmundo Peña Cervantes, por su gran capacidad y experiencia, así como la paciencia que me brindó para desarrollar esta investigación.

A los asesores, Dr. Rubén López Cervantes y Dr. Alejandro Zermeño González, por sus observaciones en el análisis en este trabajo de investigación.

Al área de Química de suelos por la valiosa ayuda y apoyo prestado.

A mi familia especialmente:

Para mi abuela Alejandra de Jesús Vda. de Alvarado, que poseyó la sapiencia que solo se obtiene con el vivir.

Para mis Padres Carmen y Manuel, cuya sabiduría y ejemplo me respaldan de los deslices del camino.

Para mis hijos Alejandra, Jaime Timoteo y Juan Carlos, que están en camino de saber lo hermoso que es existir y que solo el continuo bregar nos puede procurar.

Para mis hermanos Ma. Angelina, Ma. Enriqueta, Carmen Alicia, Héctor Manuel, Rogelio y José Armando, pues su inspiración me condujo por el camino de este proyecto.

COMPENDIO

ESPECIACION QUIMICA Y FITOEXTRACCION DE PLOMO DE UN SUELO  
CONTAMINADO POR ACTIVIDAD INDUSTRIAL

POR

JAIME TIMOTEO GONZÁLEZ ALVARADO

MAESTRÍA

SUELOS

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, JUNIO DE 2010

DR. EDMUNDO PEÑA CERVANTES

Palabras clave: Metales pesados, pH, fitoremediación, suelo contaminado, agentes quelatantes.

La presente investigación se realizó en dos etapas: 1<sup>a</sup>. Especificar las distintas especies químicas del plomo en un suelo contaminado, al modificar el pH mediante la adición de ácido sulfúrico de acuerdo a dos métodos de extracción secuencial: Tessier

1979 y DiGiulio y Ryan 1987 y 2<sup>a</sup>. Evaluar el efecto de tres agentes quelatantes (EDTA, K-Tionic, Fulvato de hierro) adicionados a 500 mg kg<sup>-1</sup> y su efecto: en producción de materia seca y biodisponibilidad de plomo para su Fitoextracción.

La evaluación nos permite establecer: las fracciones I (solubles) no hubo diferencia ya que representan menos del 1%; en la fracción II (cambiable), en el método Tessier aumentó con respecto al testigo en un 16 y 24% mientras que en el método DiGiulio no hubo cambios; en la fracción III (carbonatada) de Tessier disminuyó en un 17.3 y un 25%, mientras que en la III (sulfo – orgánica) de DiGiulio disminuyó ligeramente un 4 % y aumentó un 14%; en la fracción IV (residual) las extracciones aumentaron en un 41.2% en Tessier y en DiGiulio aumentó 72.2% en promedio. Lo anterior nos indica que aumentó la extractabilidad del plomo conforme se agregó ácido sulfúrico.

Agentes quelatantes: La materia seca no presentan diferencias entre tratamientos presentándose una mayor producción con el tratamiento de K-Tionic; lo anterior demuestra que los agentes utilizados no inciden en la producción de materia seca. Para la fitoextracción de plomo, el tratamiento del EDTA en el primer corte fue el que presentó diferencias significativas, con una media de 76.67mg kg<sup>-1</sup>. En las demás extracciones no se encontraron diferencias significativas, lo que indica que estos agentes pierden su actividad con el tiempo y se reducen los efectos de los mismos.

## SUMMARY

CHEMICAL SPECIATION AND PHYTOEXTRACTION OF LEAD  
CONTAMINATED SOIL BY INDUSTRIAL ACTIVITY

POR

JAIME TIMOTEO GONZÁLEZ ALVARADO

MAESTRÍA

SUELOS

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, JUNIO DE 2010

DR. EDMUNDO PEÑA CERVANTES

Keywords: Heavy metals, pH, phytoremediation, soil pollution, chelating agents.

This research was conducted in two stages: 1st. Specify the various chemical species of lead in polluted soils, changing the pH by adding sulfuric acid according to two sequential extraction methods: Tessier 1979 and DiGiulio and Ryan 1987 and 2nd. To assess the effects of three chelating agents (EDTA, K-Thionic, iron Fulvato) added to

500 mg kg<sup>-1</sup> and its effect on dry matter production and bioavailability of lead for phytoextraction.

The assessment allows us to establish: the fractions I (soluble) there was no difference as they represent less than 1% in fraction II (switchable), the Tessier method compared with the control increased by 16 and 24% while the DiGiulio method did not change, in section III (carbonate) from Tessier decreased by 17.3 and 25%, while in the III (sulfo - organic) decreased slightly DiGiulio and catkins 4% to 14% in fraction IV (residual) withdrawals rose by 41.2% in Tessier and DiGiulio increased 72.2% on average. This indicates that increased the extractability of lead was added as sulfuric acid.

Chelating agents: The dry matter did not differ between treatments had increased production to the processing of K-Thionic, this shows that the agents used did not affect dry matter production. For lead phytoextraction, EDTA treatment in the first court was that significant differences, with half of 76.67mg kg<sup>-1</sup>. In the other extractions were no significant differences, indicating that these agents lose their activity over time and reduces the effects of them.

## INDICE DE CONTENIDO

	Página
ÍNDICE DE CUADROS Y GRÁFICAS.....	ix
INTRODUCCIÓN.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	7
Contaminación del suelo.....	7
Metales Pesados.....	8
Metales pesados en los suelos.....	9
Plomo.....	11
pH.....	13
Especiación.....	14
Métodos de Remediación.....	16
Fitoremediación.....	20
Plantas hiperacumuladoras.....	25
Agentes quelatantes.....	28
EDTA.....	30
K-Tionic.....	31
Fulvato de hierro.....	32
Acelga.....	33
MATERIALES Y MÉTODOS.....	34
Localización del sitio experimental.....	34
Suelo.....	34
Especiación química.....	35
Fitoextracción.....	35

Descripción del diseño experimental.....	36
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37
CONCLUSIONES.....	47
RESUMEN.....	48
LITERATURA CITADA.....	49
APÉNDICE.....	54

## Índice de Cuadros

		Página
Cuadro 1	Contenido de metales en suelos	10
Cuadro 2	Rango de Metales en suelos	10
Cuadro 3	Límites máximos permisibles	11
Cuadro 4	Plantas Hiperacumuladoras y contenidos	28
Cuadro 5	Características fisicoquímicas del suelo	34
Cuadro 6	Extracción secuencial Tessier	35
Cuadro 7	Extracción secuencial DiGiulio	35
Cuadro 8	Resultados extracción Tessier	37
Cuadro 9	Resultados extracción DiGiulio	39
Cuadro 10	Comparativo de tratamientos	40
Cuadro 11	Acidez inicial y final	42
Cuadro 12	Carbonatos totales	43
Cuadro 13	Comparativo de medias materia seca	44
Cuadro 14	Comparativo de medias fitoextracción	45
Cuadro 15	comparativo de medias de extracción de plomo	46
Grafica 1	Utilización del plomo en el tiempo	12
Grafica 2	Extracción Tessier	38
Grafica 3	Extracción DiGiulio	39
Gráfico 4	Comparativo de métodos	39

## **INTRODUCCION.**

El conjunto de las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo lo hacen un sistema clave, especialmente importante en los ciclos biogeoquímicos superficiales, en los que actúa como un reactor complejo, capaz de realizar funciones de filtración, descomposición, neutralización, inactivación, almacenamiento, etc. Por todo ello el suelo actúa como barrera protectora con un gran Poder de Amortiguación de otros medios más sensibles, como los hidrológicos y los biológicos. La mayoría de los suelos presentan una elevada capacidad de depuración.

La revolución industrial ha representado una extrema abundancia de productos residuales que han llevado en el siglo XX, y más concretamente en la segunda mitad, los niveles de contaminación mundial a límites insostenibles.

Criterios técnicos de expertos en medioambiente, química y medicina, entre otros, alertan sobre la contaminación por metales pesados, los cuales provocan enfermedades, muerte y contaminación medioambiental que no es solucionable sino a largo plazo.

La contaminación ambiental amenaza los recursos del planeta: suelo, flora, fauna y al hombre mismo; provocando situaciones críticas agudas para la sostenibilidad de la biósfera. A nivel mundial y particularmente en México es tema de atención desde hace tiempo. Dos fuentes importantes de contaminación son: la industria, que genera residuos sólidos que se depositan sobre los suelos y cuyo efecto suele ser reducido en el

espacio pero persistente en el tiempo, y el otro en las zonas urbanas los escapes de automóviles con nafta adicionada con tetraetilo de plomo.

La contaminación del suelo consiste en la introducción de un elemento extraño al sistema suelo o la existencia de un nivel inusual de uno propio que, por sí mismo o por su efecto sobre los restantes componentes, genera un efecto nocivo para los organismos del suelo, sus consumidores, o es susceptible de transmitirse a otros sistemas. Uno de estos elementos es el Plomo, que en altas concentraciones es un elemento potencialmente tóxico para los seres humanos y muchas otras formas de vida. El plomo en los seres humanos puede causar, entre otros efectos, los siguientes: perturbación de la hemoglobina y anemia, incremento de la presión sanguínea, daño a los riñones, abortos y abortos sutiles, perturbación del sistema nervioso, daño al cerebro, disminución de la fertilidad del hombre a través del daño en el esperma, disminución de las habilidades de aprendizaje de los niños, perturbación en el comportamiento de los niños, como es agresión, comportamiento impulsivo e hipersensibilidad.

Estudios actuales indican que el nivel de plomo en la sangre para los niños, no debe sobrepasar los  $10 \mu\text{g dl}^{-1}$  y en los adultos de  $40 \mu\text{g dl}^{-1}$ .

Un estudio comparativo de exposición en la población general (1981-1983) en Bélgica, Malta, México y Suecia demostraron que los valores medios de concentración de plomo en la sangre en los cuatro países presentan los siguientes contenidos ( $\mu\text{g dl}^{-1}$ ): 165 (Bélgica), 307 (Malta), 269 (México) y 83 (Suecia) en 1981. En 1983 fueron 137 (Bélgica), 243 (Malta), 195 (México) y 59 (Suecia).

En un estudio de dos fundiciones de plomo en El Paso (Texas, EUA) y en Kellogs (Idaho, EUA) se encontró que el 55% y el 99% respectivamente de los niños que residían en un radio de 1,600 metros de la fundición, presentaban concentraciones elevadas de plomo sanguíneo de 40 o más  $\mu\text{g dl}^{-1}$ . Los valores biológicos presentaban una correlación inversamente proporcional con la distancia entre residencia y fundición, junto a una correlación directamente proporcional con el grado de contaminación ambiental.

Existen una serie de características del agente contaminante que condicionan su efecto final sobre el suelo, las de mayor transcendencia son las que siguen:

**Biodisponibilidad.** Es la capacidad del agente contaminante para ser absorbido por los seres vivos.

**Movilidad.** Es la capacidad para extenderse a lo largo del suelo y hacia otros sistemas con él relacionados.

**Persistencia.** Es la capacidad para permanecer en el suelo sin ser neutralizado o degradado.

Para el caso de los metales pesados no es suficiente saber por ejemplo, cuanto plomo contiene un suelo sino que es necesario saber también en que forma química se encuentra, y un procedimiento que se utiliza es la especiación química. Para estimar como remover los metales pesados del suelo es de gran utilidad determinar las diversas formas químicas en que se encuentran, así como al tipo de sustrato en el que se hallan asociados los cationes metálicos.

En la actualidad existen métodos para la recuperación de suelos, algunos son: Ventilación de suelos, Destrucción térmica, Extracción, Lavado de suelo, Depuración química, Rehabilitación electroquímica, Degradación biológica, Biorrestauración, Biorremoción, Desorción térmica, Biorremediación, y la Fitoextracción entre otros. La fitoextracción es una técnica que consiste en la utilización de plantas que absorben metales pesados y los concentran en sus tejidos; si esta acumulación llega a ser superior al uno por ciento en las partes aéreas son llamadas hiperacumuladoras. (Raskin et al, 1997).

Como cualquier tipo de planta, las hiperacumuladoras absorben los elementos que se encuentran disponibles en los suelos, éstos se pueden encontrar de diferente manera; solubles, insolubles, adsorbidos u ocluidos.

Una característica importante del suelo es el pH, ya que aumenta ostensiblemente la disponibilidad del plomo en el suelo (Cala y Kunimine, 2003); otro de los componentes del suelo que debe ser tomado en cuenta, es el contenido total de carbonatos, ya que estos dificultan la movilidad de los elementos pesados y la fitodisponibilidad en la rizósfera y los elementos se precipitan por la presencia de este compuesto (Meers et al, 2005); además la capacidad buffer es tan elevada en estos suelos que dificultan la neutralización del suelo por aplicación de ácidos para tratar de movilizar el plomo (Peña et al, 2009). Otra manera en que los investigadores han tratado de disminuir el contenido de los elementos pesados en el suelo, es el uso de sustancias coadyuvantes como los quelatos, con la finalidad de aumentar la solubilidad de los elementos en el suelo y la traslocación de éstos hacia las raíces de las plantas. Entre los agentes quelatantes más utilizados para esto, podemos mencionar el EDTA, DTPA, ácido cítrico y algunos ácidos fúlvicos. Independientemente de los problemas que se

presentan en estos suelos y que disminuyen la fitoextracción natural, esta se perfila como un proceso atractivo para la limpieza de suelos contaminados, económico y no invasivo para remover metales pesados.

## **HIPÓTESIS**

Al cambiar el pH del suelo por la adición de ácido sulfúrico, se modifica la especiación química del plomo; y el agregado de agentes quelatantes facilita la biodisponibilidad del mismo y permite mejorar la fitoextracción.

## **OBJETIVOS**

Evaluar los efectos de la aplicación de ácido sulfúrico sobre el pH del suelo y la especiación química del plomo; así como valorar el efecto de agentes quelatantes en la biodisponibilidad del plomo para su fitoextracción.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### Contaminación del suelo

Una de las principales actividades industriales a nivel mundial, es la extracción de minerales, en la cual, uno de los metales que más se extraen es el plomo. Los principales yacimientos de éste están en Australia, Canadá, Estados Unidos, y la Unión Soviética. La producción mundial minera es de aproximadamente 3'300,000 ton/año; en América Latina se produce el 14% de este total, siendo los más importantes productores Perú (212,600 ton/año) y México (184,261 ton/año). La tendencia al incremento en la producción y el consumo de plomo en América Latina, ha aumentado el riesgo de exposición y de daños en la salud de la población (Corey y Galvao, 1989).

El efecto ambiental de la extracción del plomo, sobre el suelo es directo, indirecto, negativo y acumulativo, debido a su alta toxicidad en el cuerpo humano, además por ser cancerígeno.

Un ejemplo de industria contaminante de Plomo son: las plantas de reciclaje de baterías donde se han determinado las concentraciones de Pb en las inmediaciones de éstas. En Canadá se reportan niveles de 51,000 mg kg<sup>-1</sup> en suelos adyacentes a las plantas y de 120 mg kg<sup>-1</sup> a un kilómetro de distancia (Skinner y Salin, 1995); y en Taiwán, de 1000 mg kg<sup>-1</sup> en los alrededores de las plantas y de 100 mg kg<sup>-1</sup> a 2 km de distancia (Yeh *et al*, 1996).

Situaciones similares han sido expuestas en otros estudios (Small *et a.* 1995, Farago *et al*, 1999, Onianwa y Fakayode, 2000, Palacios *et a.* 2002) donde se determinaron niveles totales de plomo superiores incluso a los encontrados en los anteriores países. La consecuencia directa de esta contaminación del suelo es una

ausencia inicial de vegetación o la pérdida de su productividad, la alteración o disminución de la biodiversidad e indirectamente, la contaminación del aire, aguas superficiales y subterráneas (Wong, 2003).

### **Metales Pesados.**

Los metales pesados son un grupo de elementos químicos que presentan una densidad relativamente alta y una toxicidad para los seres Humanos. El término "metal pesado" no está bien definido. A veces se emplea el criterio de densidad. Por ejemplo, metales de densidad mayor que  $4.5 \text{ g/cm}^3$ ; pero los valores en la bibliografía pueden ir desde  $4 \text{ g/cm}^3$  hasta  $7 \text{ g/cm}^3$ . Otros criterios empleados son el número atómico y el peso atómico. Además, el término siempre suele estar relacionado con la toxicidad que presentan, aunque en este caso también se emplea el término "elemento tóxico" o "metal tóxico".

Muchos de los metales que tienen una densidad alta no son especialmente tóxicos y algunos son elementos esenciales en el ser humano, independientemente de que a determinadas concentraciones puedan ser tóxicos en alguna de sus formas. Sin embargo, hay una serie de elementos que pueden representar un serio problema medioambiental y es común referirse a ellos con el término genérico de "metales pesados".

Los metales pesados tóxicos más conocidos son: el mercurio, el plomo, el cadmio y el talio. También se suele incluir un semimetal como es el arsénico y, en raras ocasiones, algún no metal como el selenio. A veces también se habla de contaminación

por metales pesados incluyendo otros elementos tóxicos más ligeros, como el berilio o el aluminio.

Estos metales se consideran altamente tóxicos ya que, como iones o formando compuestos, son solubles en agua y pueden ser fácilmente absorbidos por organismos vivos. Después de la absorción, estos metales pueden enlazarse a componentes celulares vitales tales como proteínas, enzimas y ácidos nucleicos, e interferir con su funcionamiento. En seres humanos algunos de estos metales, aún en pequeñas cantidades, pueden causar severos efectos de salud y fisiológicos. En las plantas las alteraciones son variadas y dependiendo de la forma química del metal pueden, entre otros impactos adversos, inhibir la germinación de semillas, el transporte de electrones en la mitocondria, provocar clorosis, reducir la fotosíntesis y la síntesis del ATP. Desde el punto de vista biológico, se distinguen dos grandes grupos, aquellos que no presentan una función biológica conocida y los que tienen la consideración de oligoelementos o micronutrientes.

### **Metales pesados en suelos**

Debido a sus efectos tóxicos de corto y largo plazo, las concentraciones máximas permisibles de estas especies en el suelo (Cuadros 1y 2), son estrictamente vigiladas a través de la regulación aplicable. Por lo tanto, los efectos tóxicos de estos elementos están dados por gran medida en función de la concentración. Los límites de concentraciones tóxicas son distintos para cada metal y dependen en gran medida de la química de cada especie y de los efectos fisiológicos asociados.

Cuadro 1. Contenido de metales en suelos, en  $\text{mg kg}^{-1}$  (Bowie y Thornton, 1985).

Elemento	Rango Normal	Valores anómalos
As	<5-40	>2,500
Cd	<1-2	>30
Cu	2-60	>2,000
Mo	<1-5	10-100
Ni	2-100	>8,000
Pb	10-150	>10,000
Se	<1-2	>500
Zn	25-200	>10,000

El cuadro 2 muestra los niveles estándar de algunos de los metales más comunes en los suelos de acuerdo a rangos de concentración en el suelo y límites regulatorios establecidos por el Departamento de Protección Ambiental de Nueva Jersey.

Cuadro 2. Rango de cantidades de metales ( $\text{mg kg}^{-1}$ ).

Elemento metálico	Suelo	Límite regulatorio
Cadmio	0.10 – 345	100
Cromo	0.05 – 3950	100
Mercurio	<0.01 – 1800	270
Zinc	150.0-5000	1500
Plomo	1-6900	600

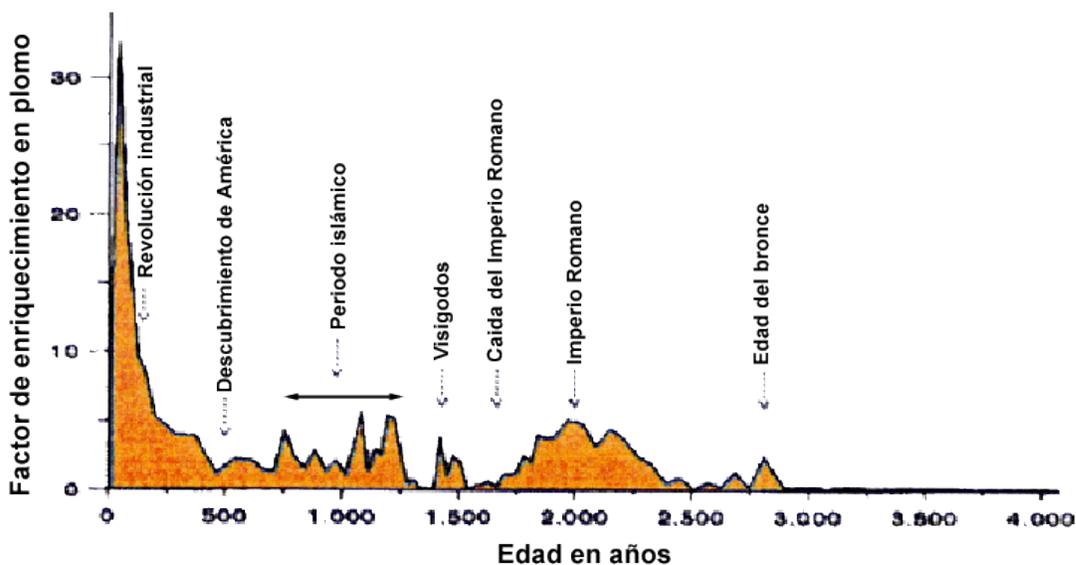
Cuadro 3. Límites máximos permisibles de diferentes contaminantes en el suelo (mg kg<sup>-1</sup>).

Contaminante	Uso agrícola/residencial	Uso industrial
Arsénico	22	260
Berilio	150	1,900
Cadmio	37	450
Cromo Hexavalente	280	510
Mercurio	23	310
Níquel	1,600	20,000
Plomo	400	800
Selenio	390	5,100
Talio	5.2	67
Vanadio	78	1,000

NOM-147 SEMARNAT/SSA1-2004.Niveles de MICRO-ELEMENTOS.

### **Plomo.**

El Plomo es un metal blando que ha sido conocido a través de los años por su amplia gama de aplicaciones (figura 4) y ha sido usado desde 5000 años antes de Cristo en productos metálicos, cables y tuberías, pero también en pinturas y pesticidas. El plomo es uno de los cuatro metales que tienen un mayor efecto dañino sobre la salud humana. Este puede entrar en el cuerpo humano a través de la comida (65%), agua (20%) y aire (15%).



Grafica 1. Utilización del plomo a través de los años.

El plomo tiene un número atómico 82 y peso atómico 207.19. Se considera un metal pesado ya que su densidad relativa, o gravedad específica, es de 11.4 a 16°C, es de color azulado, que se empaña para adquirir un color gris mate. Es flexible, inelástico, se funde con facilidad, se funde a 327.4°C (621.3°F) y hierve a 1725°C (3164°F). Las valencias químicas normales son 2 y 4. Es relativamente resistente al ataque de los ácidos sulfúrico y clorhídrico. Pero se disuelve con lentitud en ácido nítrico. Forma muchas sales, óxidos y compuestos organometálicos. Es anfótero, ya que forma sales de plomo de los ácidos, y sales metálicas del ácido plúmbico.

El plomo provoca una intoxicación progresiva en el hombre y animales. La presencia de material orgánico en los suelos inhibe la toxicidad de estos elementos pesados, ya que con ellos forma quelatos que son insolubles.

Industrialmente, sus compuestos más importantes son los óxidos de plomo y el tetraetilo de plomo. Forma aleaciones con muchos metales y en general, se emplea en

esta forma en la mayor parte de sus aplicaciones. Todas las aleaciones formadas con estaño, cobre, arsénico, antimonio, bismuto, cadmio y sodio tienen importancia industrial.

## **pH**

El pH del suelo tiene un efecto sobre la biodisponibilidad de la mayoría de los metales pesados al afectar el equilibrio entre la especiación metálica, solubilidad, adsorción e intercambio de iones en el suelo (Mc Bride et al., 1997). Además, afecta a los procesos de ingreso del metal a las raíces de las plantas (Rieuwerts et al, 1998). El pH del suelo sería el factor más importante que afecta la biodisponibilidad de los metales (McBride et al, 1997).

En suelos ácidos se produce una competencia de los iones  $H^+$  con los cationes metálicos por los sitios de intercambio. A pH bajo se produce desorción de los metales pesados, aumentando su concentración en la solución del suelo y su biodisponibilidad (Alloway, 1995; Lassat, 2001). Al aumentar el pH los metales pesados son removidos de la solución del suelo y adsorbidos por los coloides del suelo, disminuyendo su biodisponibilidad (Basta y Tabatabai, 1992). El pH del suelo también afecta la carga eléctrica de los componentes de la fracción coloidal del suelo - fracción  $< \mu$  constituida por las arcillas, óxidos y materia orgánica humificada- que poseen carga dependiente del pH, la cual se hace más negativa a pH alcalino y más positiva a pH ácido. Por lo tanto, en suelos con carga variable, la retención de cationes metálicos aumenta en la medida que el pH del suelo sea más alto y se reduce al acidificarse el suelo.

Con excepción del Mo, Se y As, la biodisponibilidad de los metales pesados disminuye con el aumento del pH del suelo debido a su precipitación como hidróxidos

insolubles, carbonatos y complejos orgánicos (Silveira et al, 2003). La formación de complejos metálicos también se ve afectada por el pH. (Elliot et al, 1988).

### **Especiación.**

La Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) ha publicado directrices o recomendaciones para la definición del Análisis de la especiación: es la actividad analítica de identificar y / o medir las cantidades de una o más especies químicas individuales en una muestra. Las especies químicas son formas específicas de un elemento definido en cuanto a la composición isotópica, electrónico o estado de oxidación, y / o complejos o la estructura molecular. La especiación es la distribución de un elemento, entre las especies químicas que se definen en un sistema. En caso de que no sea posible determinar la concentración de las distintas especies químicas individuales que resumen la concentración total de un elemento en una matriz dada, es una práctica útil hacer un fraccionamiento en su lugar.

#### **La especiación de metales asociados a la fase sólida.**

Para la especiación de los elementos asociados en fase sólida, ya sea individual o de extracción secuencial, el esquema de Tessier es el más ampliamente utilizado. La aplicación de esta técnica sigue siendo objeto de mucha controversia. La no-selectividad de los extractantes y el pequeño rastro en la redistribución del elemento entre las fases durante la extracción, son los principales problemas. A pesar de estas restricciones, los procedimientos de extracción secuencial han demostrado ser útiles en el ámbito de la química analítica del medio ambiente. Es en todo caso, importante aceptar un régimen común para que los resultados de diferentes científicos se puedan comparar y una base

de datos común sobre el modo de presencia de metales en suelos y sedimentos como puede ser la acumulación.

Las metodologías de extracción química secuencial se aplican en Geología con el objetivo de determinar la especiación de los metales traza en suelos, sedimentos o rocas, información que no se puede conseguir a partir únicamente de un análisis químico convencional sobre muestra total. En la actualidad existe una amplia variedad de protocolos de extracción secuencial diferentes, sin haberse impuesto todavía uno de ellos como un método estándar plenamente aceptado.

Las fracciones de metales pesados que comúnmente se suelen diferenciar en los sólidos mediante este tipo de metodologías son: intercambiable, asociada a carbonatos, asociada a óxidos Fe y Mn, asociada a materia orgánica y fracción residual. Los distintos protocolos existentes difieren en los reactivos empleados y también en las condiciones experimentales, todo ello dependiendo de los objetivos concretos del estudio a realizar.

Las extracciones secuenciales han encontrado unos campos de aplicación muy amplios en las ciencias geológicas, sobre todo en los estudios de geoquímica ambiental en medios acuáticos (ríos, lagos, estuarios), en edafología y también en hidrología subterránea.

Ruby *et al* (1996), mostraron que las diferencias encontradas en la bioaccesibilidad del plomo en humanos y animales están relacionadas con la especiación química del plomo en los suelos y en los materiales residuales a los que los sujetos fueron expuestos. Por tanto, el empleo de técnicas de extracción química secuencial puede considerarse una herramienta adecuada para evaluar el peligro potencial de los suelos contaminados por este metal.

Los protocolos de extracción secuencial adolecen, en conjunto, de una serie de problemas metodológicos de cierta envergadura y que han sido abordados por distintos autores, pudiendo destacar entre ellos la selectividad de los reactivos empleados, la propia definición operativa de estos métodos, la redistribución (o readsorción) elemental, las condiciones experimentales bajo las que se pueden ejecutar los protocolos, la escasez de materiales sólidos de referencia y, derivados de este último problema, la dificultad de validación de los distintos métodos y la evaluación de su precisión. A pesar de todos estos inconvenientes metodológicos, los procedimientos de extracción secuencial constituyen en la actualidad la mejor aproximación para describir la asociación geoquímica de los elementos traza con las diferentes fracciones de los sólidos.

### **Métodos de remediación.**

En la legislación mexicana (NOM-138-Semarnat-2003), el término remediación de suelos se entiende como el conjunto de acciones necesarias para recuperar y restablecer sus condiciones, con el propósito de que éste pueda ser destinado a alguna de las actividades previstas en el programa de desarrollo urbano o de ordenamiento ecológico que resulte aplicable para la zona respectiva. En la citada norma, el término remediación se utiliza como sinónimo de restauración, reversión, saneamiento, limpieza, rehabilitación y regeneración.

El término tecnología de remediación implica el uso de cualquier operación unitaria o conjunto de ellas, que altere la composición de un contaminante peligroso a través de acciones químicas, físicas o biológicas de manera que reduzcan su toxicidad,

movilidad o volumen en la matriz o material contaminado. Las tecnologías de remediación representan una alternativa a la disposición en tierra de residuos peligrosos sin tratamiento y sus posibilidades de éxito, bajo las condiciones específicas de un sitio, pueden variar ampliamente (US EPA, 542-F-01-001S. 2001).

La recuperación de suelos contaminados mediante métodos físicos o químicos “tradicionales” es generalmente rápida pero cara. Existen técnicas biológicas, o bioremediación, cuyo objetivo básico es promover los procesos naturales y desarrollar técnicas para acelerar estos procesos en la recuperación de suelos y sedimentos contaminados.

### **Técnicas de Remediación de Suelos Contaminados**

El rol de la ciencia ha sido de gran importancia en el estudio de los efectos adversos que algunas sustancias tóxicas pueden causar al medio ambiente. A través de la investigación se ha podido predecir el comportamiento y mecanismos de transporte de algunas especies químicas en el ambiente, lo cual ha permitido elaborar recomendaciones con sustento científico para establecer medidas de prevención y mitigación en beneficio de la salud humana y de los ecosistemas.

Entre los métodos de rehabilitación de suelos más utilizados se encuentran:

- **Ventilación de suelos.** Es un método de recuperación que se realiza directamente, no se necesita excavar, ni llevar el suelo a otro sitio para tratarlo. Se usa para contaminantes volátiles como los hidrocarburos, con una bomba se extrae el aire

del subsuelo y los contaminantes son arrastrados en la corriente de aire que se extrae.

- **Bombeo de aguas subterráneas.** Se usa para eliminar hidrocarburos. Se hacen pozos para reunir los contaminantes solubles en el agua y luego es extraída con una bomba.
- **Destrucción térmica.** Se usa en suelos contaminados por aceites, hidrocarburos, solventes clorados y no clorados, y cianuros. Se traslada el suelo a una cámara de combustión donde se somete a temperaturas elevadas para evaporar los contaminantes y se depuran los gases que se forman.
- **Extracción.** Se usa para suelos contaminados por aceites, cianuros, metales pesados, solventes clorados y fenoles. Se usan solventes orgánicos y/o soluciones ácidas o básicas para extraer los contaminantes. Se forma una mezcla del solvente con el suelo para extraer los contaminantes y luego se lava el suelo y se separan los contaminantes.
- **Lavado de suelo.** Se usa para suelos contaminados por metales, compuestos orgánicos volátiles como bifenilos policlorados, hidrocarburos poliaromáticos o semivolátiles como las dioxinas. Generalmente se usa agua y a veces aditivos químicos que ayuden a hacer más eficiente el proceso. Favorece la concentración de los contaminantes en la arena y la arcilla, y luego se usa la incineración o la biorremediación. Para la descloración de los bifenilos policlorados (PBC) se usa óxido de calcio, hidróxido de calcio o hidróxido de sodio y se aumenta el pH hasta valores de 9 a 11 y se produce la descloración.
- **Depuración química.** El suelo debe ser permeable o aislarse para asegurar la penetración del oxidante y la salida de los productos de la degradación. Se usan

oxidantes químicos que provoquen reacciones químicas que destruyan a los contaminantes.

- **Rehabilitación electroquímica.** Se usa para eliminar iones metálicos del suelo. Se colocan electrodos en la zona contaminada y se conectan a una corriente eléctrica para provocar el flujo de los contaminantes que luego se conducen a un pozo mediante vacío. Se debe tomar en cuenta propiedades del suelo como la permeabilidad, capacidad de adsorción, pH, grado de saturación, entre otros.
- **Degradación biológica.** Se usa para suelos contaminados con aceites, hidrocarburos, algunos compuestos clorados y plaguicidas. Se requiere de un sitio donde no se contamine más suelo, donde se extiende en capas el suelo contaminado para airearlo y se añaden nutrientes para activar los procesos biológicos que eliminan la contaminación. Es importante tener presente otros factores como la humedad, la temperatura y el pH del suelo.
- **Biorrestauración,** se usa para suelos contaminados con aceites pesados, queroseno y tricloroetanos. Se requiere de sitios especiales para controlar las condiciones de aireación, temperatura, humedad, pH y nutrientes para favorecer los procesos de los microorganismos que eliminan los contaminantes. Bacterias como la *Pseudomona aeruginosa* se usan para retirar metales contaminantes como el cadmio, el plomo y el mercurio. La bacteria *Thyobacillus ferro-oxidans* transforma al sulfuro de hierro en ácido sulfúrico y en sulfato de hierro, que luego pueden ser eliminados por lixiviación.
- **Biorremoción.** Se emplea como una alternativa para atender la contaminación producida por metales pesados. Desde hace ya varias décadas se ha reconocido el papel de algunos microorganismos para atender este problema. El desarrollo de

biotecnologías, ha acercado aún más esta posibilidad. La biorremoción es el proceso mediante el cual pueden acumularse y concentrarse una serie de contaminantes, gracias a la acción de microorganismos, que son capaces de capturar a los iones metálicos, mediante adsorción, formación de metalotioninas, fitoquelatinas y de algunos otros compuestos.

El uso de estos métodos resulta más barato, puede ser utilizado para un metal específico, se puede aplicar a volúmenes muy grandes de agua o de suelo y pueden actuar bajo condiciones muy diversas tanto de temperatura, pH y presencia de otros iones. La transformación de polímeros presentes en el suelo mediante acción microbiana puede originar ácidos simples, aminoácidos, ácidos grasos y ácidos fenólicos. También se pueden sintetizar nuevos polímeros como el ácido húmico y el fúlvico.

La biosorción es un proceso basado en la capacidad de la pared celular de las bacterias y de otros organismos para unir selectivamente iones. Este proceso se caracteriza por la unión rápida y reversible de ciertos iones a la superficie de las bacterias. Según la especie de bacteria que se emplee se pueden captar diferentes metales.

### **Fitoremediación**

El término Fitoremediación (Fitoremediación; “fito”, del griego “phyto”, que significa “planta”) se refiere a una tecnología innovadora que utiliza plantas vivas y los microorganismos asociados a su rizósfera para la remediación in situ y ex situ de suelos, lodos, sedimentos y aguas contaminados a través de la remoción, degradación o estabilización de los contaminantes. La principal motivación para el desarrollo de este

tipo de tecnología es el gran potencial para la remediación de sitios contaminados a bajos costos. Asimismo éstas técnicas biológicas o ecológicas, se consideran potencialmente capaz de dar soluciones in situ, con un gasto financiero y tecnológico relativamente bajo. Además, el resultado, una cobertura “verde”, es más interesante y, hoy en día, más aceptable para la población, siendo más “ecológico” (Bernal, 2007).

La Fitoremediación promete proporcionar una alternativa barata a las técnicas fisicoquímicas tradicionales de la remediación, usando las plantas para controlar el destino de los metales tóxicos en el ambiente (Archer y Caldwell, 2004).

### **Factores que inciden en la Fitoremediación.**

Uno de los principales factores que rigen la disponibilidad de iones metálicos para las plantas, es su solubilidad. La limitada biodisponibilidad de ciertos iones metálicos, debido a su baja solubilidad en agua y a su sorción a las partículas del suelo, restringe su captación/ acumulación por las plantas. La solubilidad de los iones metálicos depende de varias propiedades fisico-químicas del suelo, así como de su mineralogía, concentración y especie (Chaney et al, 1997, Singh et al, 2003). Además de lo anterior, para considerar el uso de la Fitoremediación como opción de limpieza para un sitio, debe tenerse en cuenta el nivel de limpieza requerido, las condiciones del sitio y las plantas usadas. Algunas consideraciones generales para el diseño de un plan de Fitoremediación son (ITRC 1999):

Selección de plantas. Las plantas usadas se deben seleccionar con base a su tasa de crecimiento y biomasa, a la profundidad de sus raíces, a su potencial de evapotranspiración y a su capacidad para tolerar y acumular contaminantes.

Concentración de los contaminantes. Los altos niveles de contaminación pueden eliminar la posibilidad de la Fitoremediación como una opción de tratamiento.

Estudios de tratabilidad. Es recomendable evaluar el potencial de diferentes especies antes de diseñar un sistema de Fitoremediación. Estos estudios aseguran que el sistema propuesto alcance los resultados esperados, proporcionan datos de transformación y toxicidad, así como información acerca del destino del contaminante en la planta.

Velocidad de captación de contaminantes y tiempo requerido para la limpieza. Es necesario estimar la velocidad de captación de contaminantes por la planta, para así determinar el tiempo necesario para lograr los objetivos de la remediación (Schnoor 1997).

Disponibilidad de agua, consumibles agronómicos y de mantenimiento. Los consumibles incluyen los nutrientes (N, P, K) y materia orgánica necesarios para el buen crecimiento de la planta y los microorganismos de la rizósfera. El mantenimiento del sistema puede requerir de la adición de fertilizantes y/o agentes quelantes.

La Fitoremediación aplicada a suelos contaminados con elementos ó compuestos inorgánicos, incluye, básicamente, tres mecanismos: la **fitoextracción** o fitoacumulación, la **fitoestabilización** y la **fitovolatilización** (Chaney et al, 1997).

**Fitoextracción o fitoacumulación.** Se refiere a la concentración y traslocación, a través de las raíces, de contaminantes metálicos presentes en el suelo hacia diferentes partes cultivables de la planta, dando como resultado la limpieza permanente del sitio.

Es la tecnología más reconocida entre todas las de este tipo, por lo que se detalla más adelante.

La Fitoextracción de metales contaminantes metálicos de suelos es, hasta la fecha, uno de los campos con mayores avances científicos y tecnológicos. Durante este proceso, el contaminante debe encontrarse biodisponible para que la absorción por la raíz pueda ocurrir. La traslocación (movimiento) del contaminante desde la raíz a los brotes de la planta, hace que el tejido pueda cultivarse fácilmente y disminuye la exposición de los trabajadores. En la práctica, las plantas acumuladoras de metales se siembran o trasplantan al sitio contaminado y se cultivan con prácticas agrícolas comunes.

Para mejorar el proceso de fitoextracción, la biodisponibilidad del contaminante hacia las raíces puede facilitarse a través de la adición de agentes acidificantes, de fertilizantes o quelantes (Prasad y Freitas. 2003). Con este principio, existen dos estrategias básicas (Salt et al. 1998):

(i) Fitoextracción asistida por quelantes. La adición de agentes quelantes al suelo favorece la acumulación de metales en partes cultivables de una planta. Los agentes quelantes incrementan la solubilidad de metales en el suelo. Este proceso es el que se encuentra más desarrollado y disponible comercialmente.

(ii) Fitoextracción continua de largo plazo. Se basa en procesos fisiológicos especializados que permiten la acumulación de metales durante todo el ciclo de crecimiento. Las plantas con esta capacidad pueden acumular, de forma natural, metales (> 1%) como Zn, Ni, Se o Mn.

La velocidad de remoción de un contaminante depende de la biomasa reunida durante la cosecha, del número de cosechas por año y de la concentración del metal en la biomasa cosechada. El éxito de la fitoextracción depende principalmente de: (i) la capacidad de la especie para acumular grandes cantidades del contaminante (1-3% en biomasa en peso seco) en sus tejidos cultivables, y de (ii) la capacidad para producir grandes cantidades de biomasa en corto tiempo (Cunningham y Ow, 1996, Prasad y Freitas, 2003).

**Fitoestabilización.** Es el uso de ciertas especies de plantas para inmovilizar contaminantes presentes en suelos a través de su absorción y acumulación en las raíces, adsorción en las raíces o precipitación por la presencia de exudados. Estos mecanismos conducen a la estabilización física de los suelos a través de una reducción en la movilidad, toxicidad y/o biodisponibilidad de los contaminantes. Las plantas usadas con este fin deben ser especies no comestibles o especies en las que la traslocación de metales a los tejidos que crecen arriba del suelo (y que puedan consumirse por animales o humanos) sea mínima.

**Fitovolatilización.** Implica la captación de contaminantes volátiles (Hg y Se) por plantas y su posterior volatilización o liberación (en su forma original o modificada) a la atmósfera. Este mecanismo puede tener ventajas sobre la fitoextracción debido a que no es necesaria la cosecha ni la disposición de biomasa; sin embargo, es una tecnología de gran controversia por las implicaciones ambientales de la liberación de metales a la atmósfera. Aunque es una tecnología con potencial para la remediación de suelos contaminados con Hg y Se, es indispensable considerar el empleo de sistemas para la captura de emisiones.

### **Plantas hiperacumuladoras.**

El uso de plantas hiperacumuladoras de metales para la limpieza de suelos contaminados es una de las principales estrategias de fitoextracción que actualmente se están desarrollando (Lombi *et al*, 2001). Las plantas hiperacumuladoras tienen la capacidad de absorber y translocar a sus hojas, grandes cantidades de metales, como Co, Cu, Ni o Pb, alcanzando concentraciones de más de 1000 mg kg<sup>-1</sup> de metal en hoja ó más de 10,000 mg kg<sup>-1</sup> de Zn y Mn (Baker *et al*, 2000).

Una gran variedad de especies de plantas son capaces de colonizar suelos degradados por actividades mineras, si les damos la oportunidad y el tiempo necesario; son las especies metalófitas.

Las plantas metalófitas han desarrollado mecanismos biológicos que les permiten sobrevivir en suelos ricos en metales, tanto naturales como antropogénicos. La mayoría consigue su tolerancia restringiendo fisiológicamente la entrada de metales a las raíces y/o el transporte hacia las hojas. Algunas especies, sin embargo, presentan mecanismos extremadamente especializados que les permiten acumular o "hiperacumular" metales (como As, Cd, Pb, Co, Ni y Zn) en sus hojas, hasta alcanzar concentraciones superiores al 2% de su materia seca: son las denominadas "plantas hiperacumuladoras". Algunas plantas tienen la capacidad para acumular concentraciones de metales 10 a 500 veces mayores que otras especies, alcanzando de 1 a 5% del peso seco de la planta.

### **Especies con potencial para la fitoextracción de metales.**

Las Asteraceae toleran niveles altos de algunos metales en comparación con otros grupos taxonómicos. En las Asteraceae se ha reportado por ejemplo tolerancia al

plomo en *Sonchus oleraceus* y se le ha propuesto como especie fitoremediadora de ambientes contaminados con este metal (Xiong, 1997). También se ha demostrado tolerancia al cadmio en el diente de león (*Taraxacum officinale*) (Kuleff y Djingova, 1984). Otras especies como *Cichorium intybus*, *Erigeron canadensis* y *Eupatorium capillifolium* han sido investigadas como especies índice de cadmio, cromo, níquel o vanadio, es decir como especies que indican la biodisponibilidad de estos metales contaminantes, por incorporarlos sin mostrar síntomas de toxicidad (Martin *et al*, 1996). El cadmio se puede acumular en girasol, *Helianthus annuus*(Simon, 1998). El girasol es una rizofiltradora potencial de los metales cadmio, níquel, cobre, cinc, cromo y plomo, así como de radioisótopos (Brooks, 1998). Existen plantas que al mismo tiempo que son hiperacumuladoras de cobre, lo son de cobalto, entre ellas algunas especies de la familia Asteraceae (Brooks, 1998).

*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray (Asteraceae), árnica, botón de oro: Es una especie muy común en Venezuela en diversas regiones como la Cordillera de la Costa y Andina y Guayana. Ocupa lugares abiertos y alterados (Steyermark y Huber, 1978). La utilización de la especie como leñosa forrajera no es muy común en Venezuela, donde se le usa mayormente en la medicina popular.

*Sonchus oleraceus* (Asteraceae), cerraja, maleza cosmopolita en la que se ha reportado tolerancia a metales pesados (Xiong, 1997) y niveles altos de ascorbato y carotenos (Guil-Guerrero *et al.*, 1998). Steyermark y Huber (1978) describe a *S. oleraceus* L. como una hierba anual comestible, nativa de Europa que ocupa lugares abiertos y alterados.

*Emilia coccinea* (Sims) Sweet (Asteraceae), maleza descrita por los campesinos de la zona de estudio como muy agresiva y nueva en la zona. Steyermark y Huber

(1978) la describen como nativa de Asia y África y presente en lugares alterados, sabanas y sitios abiertos en la selva de transición y veranera.

Algunas otras especies son: *Ageratum adminalifolia* (Asteraceae), *Spinacia oleracea* L. (Chenopodiaceae), espinaca, *Beta vulgaris* L. v. cicla (Chenopodiaceae), acelga y *Petoselinum crispum* (Umbeliferaceae), perejil.

Los pastos son el género más adecuado para la Fitoremediación de formas orgánicas e inorgánicas de metales, por su hábitat de crecimiento y adaptabilidad a una variedad de condiciones edáficas y climáticas (Singh et al. 2003). Se ha reportado una gran biodiversidad de especies con potencial, probado en campo y en laboratorio, para la Fitoremediación. A la fecha, se han identificado 163 taxones de plantas, pertenecientes a 45 familias, tolerantes a los metales y capaces de crecer en concentraciones elevadas (Prasad y Freitas 2003).

Se han reportado especies de musgos (Briofitas) y helechos (Pteridofitas) con capacidad de crecer en sustratos ricos en metales. Entre las Angiospermas, se han identificado cerca de 400 hiperacumuladoras; entre las familias dominantes se encuentran: Asteraceae, Brassicaceae, Caryophyllaceae, Cyperaceae, Cunouniaceae, Fabaceae, Flacourtiaceae, Lamiaceae, Poaceae, Violaceae y Europhobiaceae. De estas familias, Brassicaceae tiene el mayor número de taxones (11 géneros y 87 especies) con capacidad para hiper-acumular metales (Prasad y Freitas 2003). Entre las plantas comúnmente usadas para la fitoextracción de Pb se encuentran los girasoles (*Helianthus annuus*) y la mostaza de la India (*Brassica juncea*); para Zn, Cd y Ni, *Thlaspi* spp. (ITRC 1999). Asimismo, se conocen cerca de 300 especies que hiper-acumulan Ni, 26; Co, 24; Cu, 19; Se, 16; Zn, 11 Mn, una; y una Cd.

Cuadro 4: Algunas plantas hiperacumuladoras y sus contenidos ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) en metales pesados.

Metal	Especie	Cont. Normal	Cont. Máximo	Localidad
Cu	<i>Becium homblei</i>	183	2,500	Zambia
Mn	<i>Fucus vesiculosus</i>	4,815	90,000	Rusia
Ni	<i>Alyssum Bertolonii</i>	65	100,000	Italia
Zn	<i>Thlaspi calaminare</i>	1,400	10,000	Alemania
Zn	<i>Thlaspi caerulescens</i>		43,710	Europa central
Cd	<i>Thlaspi caerulescens</i>		2,130	Europa central
Pb	<i>Thlaspi caerulescens</i>		2,740	Europa central

### Agentes Quelatantes.

Un agente quelante, o antagonista de metales pesados, es una sustancia que forma complejos con iones de metales pesados. A estos complejos se les conoce como quelatos, palabra que proviene de la palabra griega *chele* que significa "garra".

Los quelatos son complejos formados por la unión de un metal y un compuesto que contiene dos o más ligandos potenciales. El proceso de formación del quelato se conoce como quelatación o quelación. El producto de tal reacción es un anillo heterocíclico. Un quelante es un ligando polidentado que se coordina a un ion central por dos o más átomos dativos. Los anillos de 5 a 6 miembros poseen más estabilidad, por lo que se diseñan quelantes polidentados, es decir, multiligantes, para lograr complejos de alta estabilidad. La formación de quelatos polidentados da por resultado un compuesto

mucho más estable que cuando el metal se une solamente con un átomo ligante (monodentado). Esto se debe sobre todo a efectos entrópicos, ya que después de la primera coordinación las demás etapas suelen producirse liberando los ligandos coordinados anteriormente y aumentando así la entropía del sistema.

La estabilidad de los quelatos varía con el metal y con los átomos ligantes. Por ejemplo, el mercurio y el plomo tienen mayor afinidad por el azufre y el nitrógeno que por el oxígeno. Estas diferencias sirven como base de la acción de los quelantes en el cuerpo humano.

Una de las aplicaciones de los agentes quelantes es evitar la toxicidad de los metales pesados para los seres vivos.

### **Quelatos naturales.**

Son aquellos conjuntos químicos constituidos por un ion metálico y una molécula orgánica. Esta estructura protege al mineral para que este no entre en reacciones químicas indeseadas (Dickinson, 1999).

Muchas son las sustancias que actúan como agentes quelantes, entre las que se encuentran la clorofila, el glutatión, varias enzimas y vitaminas.

### **Propiedades.**

Los agentes quelantes poseen varias propiedades; el agente quelante ideal debería tener todas las siguientes:

- Alta solubilidad en agua.

- Resistencia a la biotransformación.
  - Capacidad para llegar a sitios donde se pudiera almacenar el metal.
  - Capacidad para formar complejos no tóxicos a partir de metales tóxicos.
  - Retención de su actividad quelante al pH de los fluidos corporales y excreción rápida del quelato.
- 
- Afinidad elevada por los metales, en comparación con los ligandos endógenos.
  - Poca o nula afinidad por el ion calcio  $\text{Ca}^{2+}$ , dado que este ion tiene una gran disponibilidad para la quelación en el plasma y un agente quelante puede provocar hipocalcemia a pesar de poseer una elevada afinidad por los metales pesados.

Siempre es difícil extrapolar las interacciones del quelante observadas en experimentos de laboratorio a la situación del organismo vivo, por lo que es importante llevar a cabo observaciones *in vivo* para determinar la utilidad clínica de estos agentes.

### **EDTA.**

El **ácido etilendiaminotetraacético** o **EDTA**, es una sustancia utilizada como agente quelante que puede crear complejos con un metal que tenga una estructura de coordinación octaédrica o bien biromboidal para axil. Coordina a metales pesados y livianos de forma reversible por cuatro posiciones acetato y dos amino, lo que lo convierte en un ligando hexadentado potente, y el más importante de los ligandos quelatos universalmente. En estado líquido presenta un carácter sincero y no flamable.

El EDTA, tiene cuatro carboxilos y dos grupos amino; grupos que pueden actuar como donantes de pares electrones, o bases de Brønsted-Lewis. La capacidad de EDTA

para potencialmente donar sus seis pares de electrones para la formación de enlaces covalentes coordinados a cationes metálicos hace al EDTA un ligando hexadentado. Sin embargo, en la práctica el EDTA suele estar parcialmente ionizado, y, por tanto, formar menos de seis enlaces covalentes coordinados con cationes metálicos, por ejemplo cuando se combina con el magnesio y el manganeso metálico. No siendo así cuando se combina con el plomo.

### **K-TIONIC.**

Es un producto concentrado de alta solubilidad a base de sustancias fúlvicas de origen vegetal fabricado por Arysta Lifescience Chile, S. A. y que muestra las siguientes características:

- Incrementa sustancialmente la capacidad de intercambio catiónico y las propiedades buferizantes del suelo provocando mayor disponibilidad de nutrientes.
- Promueve la conversión o quelación de un número de elementos menores hacia formas disponibles a las plantas mejorando el consumo de nutrientes y previniendo las clorosis entre otros problemas nutricionales.
- Forma complejos nutricionales disponibles con los elementos mayores.
- Provoca cambios sobre las propiedades físicas de los suelos mejorando la capacidad de mantenimiento de la humedad.
- Incrementa la permeabilidad de las membranas celulares facilitando la entrada de nutrientes.

- Aplicado al suelo vía riego o en fertirrigación favorece el crecimiento de varios grupos de microorganismos benéficos.
- Genera un mayor desarrollo radicular que se traduce en mayor asimilación de nutrientes.
- Favorece la asimilación de nutrientes y de reguladores de crecimiento aplicados foliarmente.
- Se obtienen plantas más sanas y vigorosas que toleran más fácilmente el ataque de plagas y enfermedades.
- Hace más efectiva la actividad biológica de productos sistémicos para el control de plagas, enfermedades y malezas al facilitar la absorción y translocación en la planta.

### **Fulvato de hierro.**

Existe una teoría conocida como *la teoría del fulvato* (Duchaufour, 1970), la cual propone que los ácido fúlvicos promueven la desintegración de minerales de la tierra por complexólisis (complejación y ruptura de la molécula), así los metales estarán más disponibles para la absorción por plantas. Las características de los fulvatos son aprovechadas en la fabricación de nutrientes altamente asimilables por las plantas y son utilizados como fertilizante.

De forma natural el ácido fúlvico se encuentra en el humus; porción superficial del suelo, constituida por la descomposición de materiales animales y vegetales.

**Acelga** (*Beta vulgaris*).

La acelga (*Beta vulgaris var. cicla*) (L.) K. Koch, es una planta de la familia de las Amarantáceas. Es una planta herbácea bienal cultivada como anual, con hojas grandes, nervadas y de color verde brillante. Los tallos (llamados *pencas*) son blancos, amarillos o rojos, según la variedad. Es una verdura muy apreciada ya que aporta vitaminas, fibra, ácido fólico y sales minerales con un alto contenido de agua (hasta un 91%). Las hojas exteriores, que suelen ser las más verdes, son las que contienen mayor cantidad de vitaminas y carotenos.

## MATERIALES Y MÉTODOS.

### Localización del sitio experimental.

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Química de suelos del Departamento de Ciencias del Suelo, campus Saltillo de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” (UAAAN), ubicada en la ExHacienda de Buenavista, Coahuila, México, la cual se encuentra a 25° 23’ de latitud Norte, 101° 00’ de longitud oeste y una altitud de 1742 msnm.

### Suelo.

Se trabajó con suelo contaminado con plomo, recolectado aproximadamente a 400 m de donde se tiene una intensa actividad industrial metalúrgica no ferrosa, de la ciudad de Torreón, Coahuila, con un contenido total de plomo de 500 mg kg<sup>-1</sup>.

El suelo se analizó con las metodologías descritas por Jackson (1976). Los resultados se muestran en el cuadro 5, donde se puede observar que es un suelo con un pH ligeramente alcalino y rico en carbonatos, su conductividad eléctrica está dentro del rango no salino, con una textura migajón arcilloso.

Cuadro 5. Características físicas y químicas importantes del suelo.

Análisis	M.O. (%)	N <sub>t</sub> (%)	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (mg kg <sup>-1</sup> )	CO <sub>3</sub> (%)	pH	CE <sub>(dsm<sup>-1</sup>)</sub>	Textura(%)		
							Ar	L	Arc
Suelo	0.55	0.027	6.77	23.83	7.2	2.3	52.8	34.0	13.2

Ar: Arena      L: Limo      Arc: Arcilla

Una vez caracterizado el suelo, el presente proyecto se realizó en dos etapas:

## 1ª. Etapa: Especiación química del plomo

Para evaluar el efecto del potencial de hidrógeno (pH) en la especiación química del Pb, a un kilogramo de suelo original se le aplicó 100 y 200 ml de ácido sulfúrico 12 N, procediendo a incubar durante un tiempo de 5 semanas. Para realizar la especiación se utilizó la extracción secuencial para metales pesados, basada en los trabajos de Tessier *et al.*, (1979), Cuadro 6 y DiGiulio y Ryan (1987), Cuadro 7, las cuales se realizan con el ataque sucesivo al suelo de reactivos en grado creciente de extractabilidad: agua, disoluciones salinas, ácidos débiles y ácidos fuertes concentrados, como aproximación a la distribución del plomo en las diversas fases del suelo.

Cuadro 6. Extracción secuencial por Tessier.

I.	Fracción soluble	H <sub>2</sub> O.
II.	Fracción cambiante	MgCl <sub>2</sub>
III.	Fracción Carbonatada	NaOAc.
IV.	Residual	HNO <sub>3</sub> /HCl (agua regia)

Cuadro 7. Extracción secuencial por DiGiulio y Ryan.

I.	Fracción soluble	H <sub>2</sub> O.
II.	Fracción cambiante	NH <sub>4</sub> Ac
III.	Fracción Sulfo-orgánica	NH <sub>4</sub> Ac/HNO <sub>3</sub>
IV.	Residual	HNO <sub>3</sub> /HCl (agua regia)

## 2ª. Etapa: Fitoextracción.

En esta etapa de la investigación, al suelo en estudio se le aplicaron tres agentes quelatantes como coadyuvantes para estudiar la biodisponibilidad del plomo; siendo estos: EDTA, K-Tionic y Fulvato de hierro a razón de 500 mg kg<sup>-1</sup>. Esto se realizó en

macetas de pvc con un kilogramo de suelo. Se sembró acelga (*Beta vulgaris*) como planta fitoextractora y se realizaron cortes de planta mensuales durante tres meses, y la producción obtenida se secó en estufa a 70 °C, se pesó y posteriormente se calcinó y trató con ácido nítrico concentrado; en el extracto obtenido se analizó el Pb usando un Espectrómetro de Absorción Atómica Varian Spectr AA-5.

### **Descripción del diseño experimental.**

En la 1ª. etapa, se evaluó la extracción directa del plomo, ya que en este caso solo se pretendía generar información aproximada de las diferentes formas químicas del plomo, obtenidas con la especiación química del mismo. De acuerdo a esto se obtuvieron dos grupos de datos con cuatro extracciones y dos niveles de ácido: Testigo, S-100 (+100 ml de ácido) y S-200 (+200 ml de ácido), obteniéndose el plomo extraído.

En la 2ª. Etapa, en la aplicación de agentes quelatantes se tuvo el testigo y tres tratamientos consistentes en la adición de EDTA, K-Tionic y Fulvato de Hierro, con tres repeticiones cada uno, dando un total 12 unidades experimentales. Se utilizó un diseño completamente al azar, tanto en materia seca como extracción de plomo estudiando su análisis de varianza (ANVA) y la prueba de media de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSION

### 1ª. Etapa: Especiación Química.

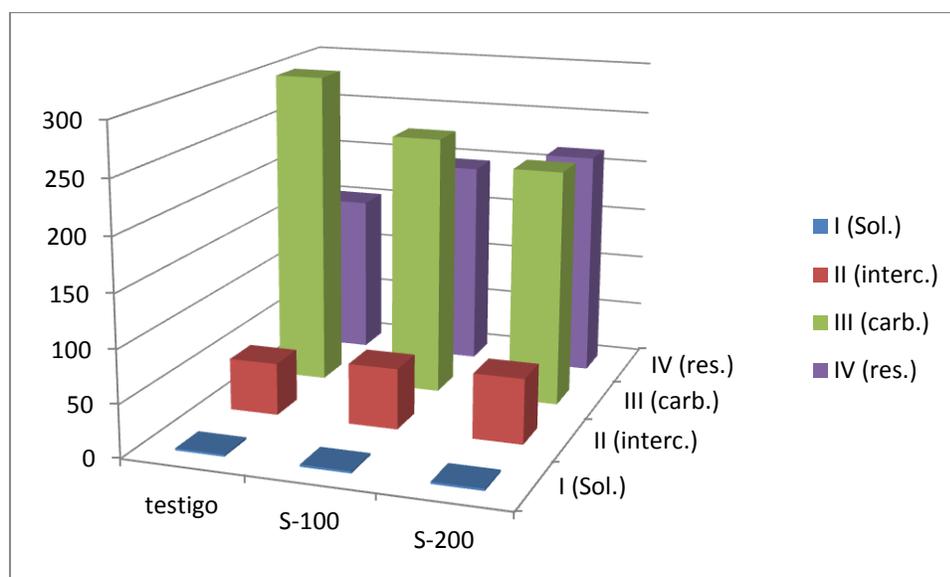
#### Extracción secuencial método Tessier.

Los resultados se presentan en el cuadro 8, donde se puede observar que del total de plomo contenido en el suelo, sólo una cantidad extremadamente pequeña se encuentra en la fracción I (soluble) sin variación entre tratamientos; Fracción II: con respecto al testigo del S-100 se extrajeron 58 mg kg<sup>-1</sup>(+16%); y del S-200 se extrajeron 62 mg kg<sup>-1</sup>(+24%); Fracción III del S-100 se extrajeron 248 mg kg<sup>-1</sup> (-17.3%), con respecto al testigo; del S-200 se extrajeron 225 mg kg<sup>-1</sup>(-25%).

Mostrando en este caso una buena movilización del plomo por efectos de los reactivos; finalmente la extracción con acetato de sodio, presenta un decremento en promedio de 13.3% en la extractabilidad, pues de 300 para el tratamiento testigo, bajó hasta 225 mg kg<sup>-1</sup> en el tratamiento S-200.

Cuadro 8. Resultados de extracción, Tessier. (mg kg<sup>-1</sup>)

Tratamiento	total	I (H <sub>2</sub> O)	II (MgCl <sub>2</sub> )	III ( NaOAc)	IV (Residual)	Rec. (%)
Testigo	505	2	50	300	153	69.70
S-100	505	2	58	248	197	60.99
S-200	505	2	62	225	216	57.23



Grafica 2. Extracción método Tessier.

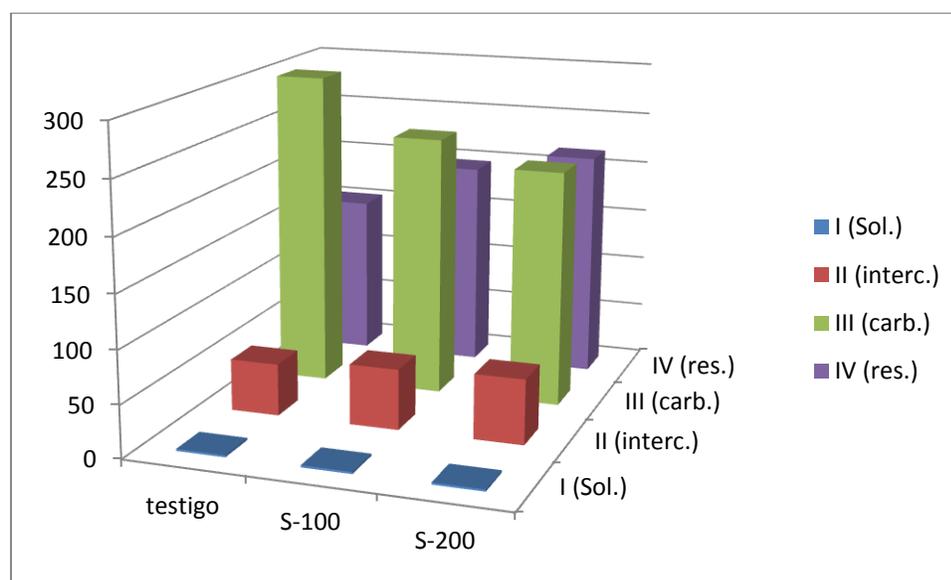
Este procedimiento presenta una extracción de plomo que pudiera considerarse como buena, ya que el porcentaje de recuperación de plomo varía entre un 57.23 y un 69.7 % con respecto de los contenidos totales.

#### **Extracción secuencial método DiGiulio y Ryan.**

Los resultados se presentan en el cuadro 9, donde se puede observar que del total de plomo contenido en el suelo, sólo una cantidad extremadamente pequeña (<1%) se encuentra en la fracción I (soluble) sin variación entre tratamientos; Fracción II: no hay variación entre tratamientos presentándose en todos una extracción de  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  (+19.8%); Fracción III del S-100 se extrajeron  $248 \text{ mg kg}^{-1}$  (-17.3%), con respecto al testigo; del S-200 se extrajeron  $225 \text{ mg kg}^{-1}$  (-25%).

Cuadro 9. Resultados extracción, DiGiulio y Ryan (mg kg<sup>-1</sup>).

Tratamiento	total	I (H <sub>2</sub> O)	II (NH <sub>4</sub> OAc)	III ( HNO <sub>3</sub> , NH <sub>4</sub> Ac)	IV ( res.)	Rec.
Testigo	505	2	100	500	97	119.21
S-100	505	2	100	480	77	115.25
S-200	505	2	100	570	167	133.07



Grafica 3. Extracción método DiGiulio y Ryan.

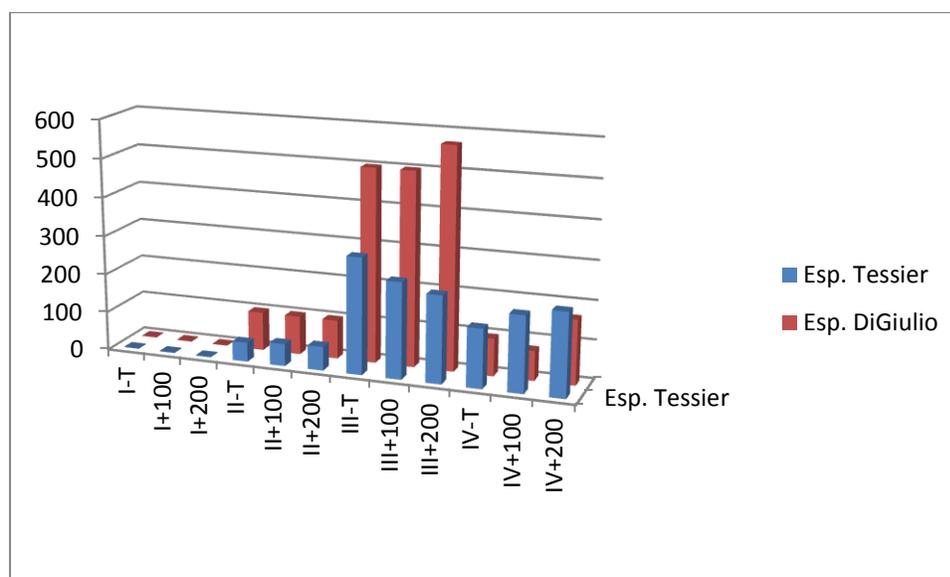
Este procedimiento presenta valores más altos, lo que refleja una mejor extracción de plomo, con los reactivos utilizados, ya que los porcentajes de recuperación varían de 119.21 % a 133.07% con respecto de los contenidos totales.

Al comparar los dos métodos utilizados se puede observar que la fracción soluble como se esperaba es muy bajo su contenido y no presenta diferencia; la fracción intercambiable en relación con el total en la metodología de DiGiulio tiende a una mejor extractabilidad lo que refleja un mayor poder de reactividad del acetato de amonio

frente al cloruro de magnesio mejorando ésta por una 56.67%, y en la tercera fracción , el acetato de sodio propuesto por Tessier es más conservador que la mezcla de acetato de amonio – ácido nítrico de DiGiulio, Tessier lo maneja como fracción carbonatada y DiGiulio como fracción sulfo-orgánica y en este sentido la metodología de Tessier se acerca más a lo observado en el suelo ya que este contiene una buena cantidad de carbonatos y muy poca materia orgánica, por otro lado el uso del ácido nítrico en la metodología de DiGiulio hace a este reactivo de extracción muy potente, reaccionando con los carbonatos y movilizándolo el plomo.

Cuadro 10. Comparativo de tratamientos.

fracción	Esp. Tessier	Esp. DiGiulio
I-T	2	2
I+100	2	2
I+200	2	2
II-T	50	100
II+100	58	100
II+200	62	100
III-T	300	500
III+100	248	500
III+200	225	570
IV-T	153	97
IV+100	197	77
IV+200	216	167



Grafica 4. Comparativo de métodos.

En este suelo contaminado con plomo por una fuerte actividad industrial y al igual a lo encontrado por Cala y Kunimine (2003) el plomo se encuentra principalmente en las fracciones intercambiable y carbonatada, esta tendencia de distribución también ha sido observada por Ramos et al., (1994), Chlopecka *et al*, (1996) y Ryan *et al*, (2001). Las pequeñas variaciones observadas en los diferentes métodos de extracción en lo que respecta al plomo intercambiable y la fracción carbonatada para Tessier y considerando esta misma fracción para DiGiulio nos damos cuenta del poco efecto de los tratamientos de acidificación con el objetivo de solubilizar el plomo, ya que de acuerdo a los resultados de pH, el equilibrio se restablece en muy poco tiempo debido al poder amortiguador del suelo por la presencia de los carbonatos, esto último concuerda con lo encontrado por Meers *et al*, (2005), quienes concluyeron que es difícil aumentar la concentración de metales pesados en solución, aun aplicando materiales para la acidificación del suelo lo que aumentaría su biodisponibilidad, esto debido

principalmente por la presencia de las altas concentraciones de carbonatos que limitan la movilidad de estos metales y la modificación del pH.

### **pH.**

En lo que respecta a los valores de pH, obtenidos por efecto de los tratamientos, (cuadro 11), se observa que disminuyeron ligeramente al inicio del experimento con respecto al testigo, pero manteniéndose cercanos a la neutralidad, incrementándose nuevamente al final del trabajo, los incrementos fueron de 0.4, 1.1 y 1.4 unidades de pH para el testigo, la aplicación de 100 ml de ácido y 200 ml de ácido respectivamente, lo que demuestra un fuerte poder amortiguador del suelo.

Cuadro 11. pH inicial y final.

	pHi	pHf
Testigo	7.2	7.6
S-100	7.1	8.2
S-200	6.6	8.0

### **Carbonatos totales.**

El contenido de los carbonatos, disminuyó poco (<1%) en el testigo y S-100; en el caso de S-200 disminuyó casi un 110% con la acidificación.

Cuadro 12. Porcentaje de carbonatos totales

Tratamiento	CO <sub>3</sub> i <sup>-</sup>	CO <sub>3</sub> f <sup>-</sup>
Testigo	21.8	20.4
S-100	20.6	17.2
S-200	10.4	10.8

---

## 2<sup>a</sup>. Etapa. Fitoextracción.

### Materia seca.

En el cuadro 13, se presentan las producciones de materia seca (MS), obtenidas en la acelga, donde de acuerdo al método estadístico entre las mismas no existen diferencias entre tratamientos a lo largo del experimento.

El valor de producción de materia seca más alto se observa con el tratamiento del agente quelatante K-Tionic en el primer corte, sin embargo también es el valor más bajo en el segundo corte y tiende a recuperarse en el tercer corte.

De acuerdo a lo anterior, en general, todos los tratamientos varían en el mismo sentido, es decir en el primer corte presentan una mayor producción, disminuyendo en el 2do y recuperándose en el tercero. Aunque se observan variaciones a lo largo del experimento entre los tratamientos estas no son significativas.

Las diferencias entre cortes de los promedios van de +2.02 del EDTA con respecto al testigo; de +1.18 del K-Tionic y -8.9% del Fulvato con respecto al testigo.

Cuadro 13. Comparativo de medias de materia seca. (g)

Tratamiento	1er. Corte	2do. Corte	3er. Corte	$\Sigma$ Prod. M. S.	Prom.
Testigo	1.764	1.132	1.699	4.595	1.532
EDTA	1.794	1.225	1.671	4.690	1.563
K-Tionic	1.976	1.087	1.586	4.649	1.550
Fulvato Fe	1.598	1.211	1.375	4.184	1.395

Cuadro 13. Extracción de materia seca.

Al final del experimento la producción de materia seca varió en forma descendente con cada quelato utilizado.

### **Fitoextracción de plomo.**

Los resultados del cuadro 14, sobre la absorción del plomo por la Acelga, muestran que en el primer corte, la aplicación de EDTA incrementa la movilidad del plomo en el suelo poniéndolo disponible para la planta, por lo que se presentan los valores más altos, siendo en este tratamiento donde se observa una diferencia significativa. Los demás tratamientos no muestran diferencias significativas y aun el valor del testigo es superior a ellos. Lo anterior se explica por el alto poder amortiguador del suelo y al contenido de carbonatos presentes que limitan la biodisponibilidad el plomo.

Durante el segundo corte se presentó la misma tendencia pero con valores más bajos de extracción de plomo, esto concuerda con la producción de materia seca en este periodo, es conveniente aclarar aquí que al finalizar el segundo corte y por lo observado,

se tomo la decisión de agregarle a cada maceta 50 mg kg<sup>-1</sup> de nitrógeno en forma de urea, esto se refleja en la producción de materia seca y en la cantidad de plomo absorbido por la planta, que manifiesta un ligero aumento y al compararlo con el testigo todos son más altos pero no significativos.

En el tercer corte se muestra que la planta nuevamente adquiere algo de vigor, pero inicia una reducción de efectividad de los agentes por efecto de la descomposición de la molécula orgánica en el suelo, siendo más persistente en este caso el tratamiento de Fulvato de Fierro, seguido por el K- Tionic y finalmente el EDTA, esta residualidad puede ser importante a más largo plazo.

Cuadro 14. Comparativo de medias de extracción de plomo. (mg kg<sup>-1</sup>)

Tratamiento	1er. Corte	2do. Corte	3er. Corte	Σ Pb Ext.
Testigo	46.7 b	36.7	40.0	123.3
EDTA	76.7 a	38.7	43.3	158.7
K-Tionic	40.0 b	35.0	50.0	125.0
Fulvato Fe	40.0 b	26.7	56.7	123.3

De acuerdo a lo anterior el EDTA, presenta una extractabilidad superior al testigo de 28.7%, lo que se considera como buena.

Cuadro 15. Comparativo de medias de extracción de plomo. ( $\text{mg kg}^{-1}$ )

Tratamiento	1er. Corte	2do. Corte	3er. Corte	Promedio
Testigo	46.7 b	36.7	40.0	41.13
EDTA	76.7 a	38.7	43.3	52.9
K-Tionic	40.0 b	35.0	50.0	41.67
Fulvato Fe	40.0 b	26.7	56.7	41.13

## CONCLUSIONES.

El uso de ácido sulfúrico para modificar el pH del suelo, al reaccionar con los carbonatos y liberar Plomo retenido en éste, tiene limitaciones ya que según lo observado en este estudio, la cantidad de carbonatos disminuye, sin embargo, el pH del suelo se restablece en poco tiempo alcanzando y sobrepasando sus valores originales, lo que demuestra un fuerte poder amortiguador del suelo.

El análisis por especiación química de los dos métodos utilizados, pone de manifiesto el alto grado de disponibilidad del Pb en el suelo de acuerdo a los reactivos utilizados, teniendo una respuesta más alta el método de DiGiulio y Ryan sobre el de Tessier. En cuanto a las diferentes fracciones, la aplicación de ácido no influye de manera significativa en la liberación del plomo y su disponibilidad en el suelo.

Con respecto a la Fitoextracción de Pb, se demuestra que el EDTA tiene un efecto quelatante elevado a corto plazo, al incrementar la fracción extractable de Pb por la planta, y el K-Tionic y el Fulvato de fierro, mantienen por más tiempo ese poder quelatante siendo mas alto el del Fulvato.

A pesar que se mejoró la extracción de Plomo por la planta al aplicar agentes quelatantes, las cantidades obtenidas todavía no son suficientes para considerar a la acelga como una planta hiperacumuladora.

## Resumen

El Experimento se realizó en el laboratorio de Química de suelos del Departamento de Ciencias del Suelo, campus Saltillo, de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” (UAAAN),

Los objetivos fueron evaluar los efectos de la aplicación de ácido sulfúrico sobre el pH del suelo y la especiación química del plomo; así como valorar el efecto de agentes quelatantes en la biodisponibilidad del plomo para su fitoextracción. El análisis del trabajo se realizó con un Diseño estadístico completamente al azar. Las cantidades de ácido agregado en la 1ª etapa fueron de 100 y 200 ml de ácido sulfúrico. En la 2ª etapa se agregaron tres agentes quelatantes EDTA, K-Tionic y Fulvato de Fierro en 500 mg kg<sup>-1</sup> por maceta, con un total de 12 unidades experimentales.

Las variables que se evaluaron fueron: 1ª etapa, especiación del plomo con dos métodos y 2ª etapa, producción de materia seca y extractabilidad de plomo.

La aplicación de ácido al suelo pone de manifiesto el alto grado de disponibilidad del Pb aumentando la disponibilidad del plomo en el suelo, sin embargo el pH del suelo se restablece en poco tiempo alcanzando y sobrepasando sus valores originales.

En la Fitoextracción de Pb, el EDTA tiene un alto efecto quelatante a corto plazo, incrementando la extracción de Pb por la planta, siendo que el K-Tionic y el Fulvato de fierro, mantienen por más tiempo ese poder quelatante siendo más alto el del Fulvato.

### Literatura Citada

**Alloway B. J. 1995.** Chapter 2: Soil process and behavior of the heavy metals. In Alloway, B. J. (ed.). Heavy metals in soils. Blackie academic and professional, London, 2<sup>nd</sup> edition. pp.11-37

**M. J.G. Archer and R. A. Caldwell. 2004.** *Water, Air, and Soil Pollution*, 257.

**Basta N. T. and Tabatabai, M. A. 1992.** Effect of cropping systems on adsorption of metals by soils: II. Effect of pH. *Soil Science*, 153:195-204.

**Baker, A.J.M., McGrath, S.P., Reeves, R. y Smith, J.A.C. 2000.** Metal Hyperaccumulator Plants: A Review of the Ecology and Physiology of a Biological Resource for Phytoremediation of Metal-Polluted Soils. En: *Phytoremediation of Contaminated Soil and Water*. (eds Terry, N. y Bañuelos, G.), pp. 85-107

**M.P. Bernal, R. Clemente, S. Vazquez, D.J. Walker ,Mayo 2007.** Revista ecosistemas (<http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp?Id=483>)

**Blaylock, M.J., Salt, D. E., Dushenkov, S., Zakharova,O., Gussman, C., Kapulnik, Y., Ensley, B. D., Raskin, I.,1997.** Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. *Environ. Sci. Technol.* 31, 860- 865.

**Bowie, S.H.U. & Thornton 1985:**Environmental Geochemistry and Health.Kluwer Academic Publ., Hingham. MA.

**Brooks R. R. 1998.** Plants that hyperaccumulate heavy metals. CAB International. Reino Unido. 380 pp.

**Cala, V., Kunimine, Y., 2003.** Distribución de Plomo en Suelos Contaminados en el Entorno de una Planta de Reciclaje de Baterías Ácidas. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 19 (3) 109-115.

**Corey, Germán; Galvao, Luis A C. 1989.** *Plomo*, Serie Vigilancia, 8. Metepec, Edo. De México: Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud, OPS/OMS.

**Cui, Y., Wang, Q., Dong, y., Li, H.,Christie, P.,2004.** Enhanced uptake of soil Pb and Zn by Indian mustard and winter wheat following combined soil application of elemental sulphur and EDTA. *Plant and Soil.* 261, 181-188.

**Cunnungham, S. D. Y D. W. Ow, 1996.** Promises and prospects of phytoremediation. *Plant physiology* 110: 715-719.

**Chaney et al 1997.** Phytoremediation of soils metals. *Current Opinion in Biotechnology* 8: 279-284.

**Chlopecka, A., Becon, J.R., Wilson, M.J., Kay, J., 1996.** Forms of cadmium, lead and zinc in contaminated soils from southwest Poland. *J. Environ. Qual.* 25, 69-75.

**Chunling Luo, Z. Shen, X. Li and A.J.M. Baker. 2006.** The Role of Root Damage in the Chelate-Enhanced Accumulation of Lead by Indian Mustard Plants. *International Journal of Phytoextraction.* 8: 323-337.

**Di Giulio, R., Ryan, E., 1987.** Mercury in soils sediments and clams from a North Carolina Peatland Water. *Air and Soil Pollution.* 33, 205-219.

**Diskinson, K. 1999.** Metalosates and TEAM. Use Them to Produce Healthier Crops, *Proc. Albionn's International Conference on Plant Nutrition,* p 149-154.

**Duchaufour, Ph. (1970).** *Precis de Pedologie.* Masson. Paris.

**Elliot H. A. and G. A. Shields. 1988.** Comparative evaluation of residual and total metal analysis in polluted soil. *Commun. Soil Sci. plant anal:* 1907-1917.

**Enviromental Protection Agency, U. S.** Contaminated Site Clean Up information. 2001.

**Epstein, A.L., Guzmán, C.D., Blaylock, M.J., Yermiyahu, U., Huang, J. W., Kapulnik, Y., Roser, C.S., 1999.** EDTA and Pb- EDTA accumulation in Brassica juncea grown in Pb-amended soil. *Plant and Soil.* 208, 87-94.

**FAO/UNESCO, 1994.** World Reference Base for Soil Resources. Wageningen/Rome.

**FAO/UNESCO, 1994.** World Reference Base for Soil Resources. Wageningen/Rome.

**Farago M.E. et al 1999.** Environmental impacts of a secondary lead smelter in Landskrona, southern Sweden. *Environ. Geochem.* 21, 67-82.

**Filip M. Tack and Marc G. Verloo.** Chemical speciation and fractionation in soil and sediment heavy metal analysis: a review.

**Guil-Guerrero J.L., Giménez-Giménez A., Rodríguez-García I., Torija-Isasa M.E. 1998.** Nutritional composition of *Sonchus* species (*S. asper* L, *S. oleraceus* L and *S. tenerrimus* L). *J J. Sci. Agric.* 76: 628-632.

**Hong, P. K. A., Li, C., Banerji, A. K., Regmi., 1999.** Extraction recovery and biostability of EDTA for remediation of heavy metal-contaminated soil. *J. Soil Contam.* 8, 81-103.

**Interstate Technology and Regulatory Cooperation (ITRC) Work Group.** Phytoremediation work Team. 1999. Pp25.

**Jackson, M.L., 1976.** *Análisis Químico de Suelos.* 3<sup>era</sup> Edn. Omega, Barcelona. 662 p.

**Lombi, E., Zhao, F. J., Dunham, S. J., McGrath, S. P., 2001.** Phytoremediation of heavy metal-contaminated soils: Natural hyperaccumulation versus chemically enhanced phytoextraction. *J. Environ. Qual.* 30, 1919-1926.

**Kuleff I., Djingova R. 1984.** The dandelion (*Taraxacum officinale*) –A monitor for environmental pollution? *Water Air Soil Pollution* 21: 77-85.

**Kukier, U., C. A. Peters, R. L Chaney, J S. Angle, and R.J. Roseberg. 2004.** The Effect of pH on Metal Accumulation in two Alyssum Species. *J. Environ. Qual.* 33: 2090-2102

**Lombi, E., Wenzel, W.W., Gobran, G.R. y Adriano, D.C. 2001.** Dependency of phytoavailability of metals on indigenous and induced rhizosphere processes: a review. En: *Trace elements in the rhizosphere.* (eds Gobran, G.R., Wenzel, W.W. y Lombi, pp. 3-24, CRC Press, Boca Raton,

**Luo, C., Shen, Z., Li, X., Baker, A., J., M., 2006.** The role of root damage in the chelate- enhanced accumulation of lead by Indian mustard plants. *International Journal of Phytoremediation.* 8, 323-337.

**Mario Yarto.** Los efectos de la contaminación: el caso de las sustancias tóxicas persistentes: Los efectos de la contaminación: el caso de las sustancias tóxicas persistentes Instituto Nacional de Ecología, Dirección de Investigación sobre Sustancias Químicas y Riesgos Ecotoxicológicos

**McBride, M.B.; Brian K., R.; Tammo, S.; Russo, J. J.; Sauvé, S. 1997.** Movility and solubility of toxic metals and Nutriins in soil fifteen years after sludge application. *Soil Science.* 162 (7): 487-500

**Michael E. Ketterer, 2006.** Source of Local Contamination of Soils in El Paso (Texas), Ciudad Juarez (Chihuahua, Mexico), and Anapra (New Mexico) Summary Report: January 27, 2006.

**Meers, E., Lesage, E., Lamsal, S., Hopgood, M., Vervaeke, P., Tack, F.M.G., Verloo, M.G., 2005.** Enhanced phytoextraction: Effect of EDTA and citric acid on heavy metal mobility in a calcareous soil. *International Journal of Phytoremediation.* 7:129-142.

**Onianwa P.C. y Fakayode S.O. 2000.** Lead contamination of topsoil and vegetation in the vicinity of a battery factory in Nigeria. *Environ. Geochem.* 22, 211-218.

**Palacios H., Iribarren I., Olalla M.J. y Cala V. 2002.** Lead poisoning of horses in the vicinity of a battery recycling plant. *Sci. Total Environ.*, 290, 1-3.

**Peña, C., E., Hernandez, T., I., Lopez, C., R., Gonzalez, A., J., T., 2009.** Especiación química del plomo de un suelo contaminado por aplicación de ácido sulfúrico. In: Preciado Rangel, P. (Ed.), *Avances en la Ciencia del Suelo. XXXIV Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo*, 17 al 21 Agosto 2009, Torreón Coahuila. 319 – 322.

**Pereira, B.F., Abreu, C. A., Romeiro, S., Magalhaes, A. M., Paz-Gonzalez, A., 2007.** Pb-phytoextraction by maize in a Pb-EDTA treated oxisol. *Sci. Agric.* 64, 52-60.

**P.S. Kidd, C. Becerra Castro, M. García Lestón, C. Monterroso.** Aplicación de plantas hiperacumuladoras de níquel en la fitoextracción natural: el género *Alyssum* L<sup>2</sup>.

**P. S. Kidd y C. Monterroso.** Biodisponibilidad de metales en suelos de minas: cambios inducidos por el crecimiento de *alyssum serpyllifolium ssp. Lusitanicum*.

**Prasad, M. N. V. y H. M. Freitas. 2003.** Metal hyperaccumulation in plants Biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electronic Journal of Biotechnology* 6 (3): 285-321.

**Puschenreiter, M., Stoger, G., Lombi, E., Horak, O., Wenzel, W., 2001.** Phytoextraction of heavy metal contaminated soil with *Thlaspi goesingense* and *Amaranthus hybridus*: Rhizosphere manipulation using EDTA and ammonium sulfate. *J. Plant. Nutr. Soil Sci.* 164, 615-621.

**Ramos, L., Hernández, L.M., González, M.J., 1994.** Sequential fractionation of copper, lead, cadmium and zinc in soils from or near Doñana National Park *J. Environ. Qual.* 23, 50-57.

**Raskin, I., Smith, R. D., Salt, D. E., 1997.** Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment. *Plant Biotechnology.* 8, 221- 226.

**Raskin, I., Smith, R. D., Salt, D. E., 1997.** Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment. *Plant Biotechnology.* 8, 221- 226.

**Rieuwerts J. S., et al 1998.** Factors influencing metals bioavailability in soils: preliminary investigations for the development of a critical loads approach for metals. *Chemical Speciation and Bioavailability*, 10(2): 61-75

**Romkens, P., Bouwman, L., Japenga, J., Draaisma, C., 2002.** Potentials and drawbacks of chelate-enhanced phytoremediation of soil. *Environ. Pollut.* 116, 109-121.

**Ruby M.V., Davis A., Schoof R. y Sellstone C.M. (1996).** Estimation of lead and arsenic bioavailability using a physiologically based extraction test. *Environ. Sci. Technol.* 30, 422-430.

**Ryan, J.A., Zhang, P., Hesterberg, D., Chou, J., Sayers, D.E., 2001.** Formation of chloropyromorphite in a lead-contaminated soil amended with hydroxiapatite. *Environ. Sci. Technol.* 35, 3798-3803.

- Salt, D. E., et al, 1998.** Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 49: 643-668.
- Schnoor, J. L. 1997.** Phytoremediation. Ground-Water Remediation Technologies Analysis Center "E" series Report. Pp37.
- Simon L. 1998.** Cadmium accumulation and distribution in sunflower plant. J. Plant Nutrition 21(2): 341-352.
- Silveira M. L. A., L. R. F. Alleoni, And L. R. G. Guilherme, 2003.** Biosolids and heavy metals in soils. Scientia Agricola 60 (4): 793-806.
- Singh, O.V., S. Labana, G. Pandey, R. Budhiraja y R.K. Jain. 2003.** Phytoremediation: An Overview of Metallic Ion Decontamination From Soil. Applied Microbiology and Biotechnology. 61: 405-412.
- Small M.J., Nunn A.B., Forslund B.L. y Daily D.A. 1995.** Source attribution of elevated residential soil lead near a battery recycling site. Environ. Sci. Technol. 29, 883-895.
- Skinner C.D. y Salin E.D. 1995.** Determination of lead in soils surrounding a lead-acid battery manufacturer. Can. J. Water Qual. Res. 30, 299-304.
- Steyermark J.A., Huber O. 1978.** Flora del Ávila. Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales. Venezuela. 971 pp.
- Tessier, A., Campbell, P.G.C., Bisson, M., 1979.** Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. Anal. Chem. 57, 844-851.
- Valdés, P.F., Cabrera, M.V.M., 1999.** La contaminación por metales pesados en Torreón Coahuila, México. Ed. Texas Center for Policy Studies, CILADHAC, Torreón, Coahuila. 50 pg.
- Vassil, A. D., Kapulnik, Y., Rasnik, I., Salt, D. E., 1998.** The role of EDTA in Pb transport and accumulation by Indian mustard. Plant Physiol. 117, 447-453.
- Wong et al, 2003.** The study of metal contamination in urban soils of Hong Kong using a Gis Based approach. Environmental pollution vol 59, issue 1 pg 113-124.
- Xiong, Z.-T. 1997.** Bioaccumulation and physiological effects of excess lead in a roadside pioneer species *Sonchus oleraceus* L. Environmental Pollution 97 (3): 275-279.
- Yeh C.Y., Chiu H.Y., Chen R.Y., Yeh K.H., Jeng W.L. y Han B.C. 1996.** Monitoring lead pollution near a storage battery recycling plant in Taiwan, Republic of China. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 30, 227-234.

## Apéndice.

	1er. Corte 05-ago-08		2do. Corte 08-sep-08		3er. Corte 10-oct-08	
	mat. seca	Mg kg <sup>-1</sup> Pb	mat. seca	Mg kg <sup>-1</sup> Pb	mat. seca	Mg kg <sup>-1</sup> Pb
1	2.0159	60	1.256	40	1.3409	30
2	2.0773	30	1.131	40	1.9922	40
3	1.1988	50	1.0095	30	1.7637	50
4	1.8728	80	1.449	30	1.6973	40
5	2.0039	80	1.3874	50	1.6166	40
6	1.5048	70	0.84	36	1.7011	50
7	2.0408	40	0.8674	35	1.7038	50
8	2.106	40	1.3913	40	1.722	40
9	1.7819	40	1.0037	30	1.3328	60
10	1.296	40	1.273	20	1.6299	50
11	1.506	50	1.2267	30	1.3176	60
12	1.9936	30	1.1336	30	1.178	60

mat. seca      1er. Corte

Trat./Rep.	1	2	3	Medias
1	2.016	2.077	1.199	1.764
2	1.873	2.004	1.505	1.794
3	2.041	2.106	1.782	1.976
4	1.296	1.506	1.994	1.599

No hay dif.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	3	0.216	0.072	0.618	0.625
error	8	0.930	0.116		
total	11	1.145			
C.V.= 19.12 %					

mat. Seca      2do. Corte

Trat./Rep.	1	2	3	Medias
1	1.256	1.131	1.010	1.132
2	1.449	1.387	0.840	1.225
3	0.867	1.391	1.004	1.087
4	1.273	1.227	1.134	1.211

No hay dif.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	3	0.039	0.013	0.249	0.860
error	8	0.413	0.052		
total	11	0.452			
C.V.=19.52%					

mat. Seca 3er. Corte

Trat./Rep.	1	2	3	Medias
1	1.341	1.992	1.764	1.699
2	1.697	1.617	1.701	1.672
3	1.704	1.722	1.333	1.586
4	1.630	1.318	1.178	1.375

No hay dif.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	3	0.194	0.065	1.210	0.367
error	8	0.427	0.053		
total	11	0.620			
C.V.= 14.59%					

Pb Ext. 1

Niv. Sig.

Trat./Rep.	1	2	3	medias	0.050	0.010
1	60	30	50	46.670	B	B
2	80	80	70	76.670	A	A
3	40	40	40	40.000	B	B
4	40	50	30	40.000	B	B

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	3	2758.330	919.443	10.030	0.005
error	8	733.336	91.667		
total	11	3491.666			
C.V.= 18.83%					

## Pb Ext. 2

Trat./Rep.	1	2	3	medias
1	40	40	30	36.670
2	30	50	36	38.660
3	35	40	30	35.000
4	20	30	30	26.670

No hay dif.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	3	250.250	83.417	1.694	0.245
error	8	394.000	49.250		
total	11	644.250			
C.V.= 20.49 %					

## Pb Ext. 3

Trat./Rep.	1	2	3	medias
1	30	40	50	40.000
2	40	40	50	43.330
3	50	40	60	50.000
4	50	60	60	56.670

No hay dif.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	3.000	491.666	163.889	2.458	0.137
error	8.000	533.334	66.667		
total	11.000	1025.000			
C.V.= 17.19 %					