#### UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

# FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



# Evaluación del efecto de enmiendas sobre la fitoestabilización de un suelo contaminado por Pb y Zn

Por

CINTHYA DENISSE GRIMALDO HERNÁNDEZ

Como requisito parcial para obtener el Grado de MAESTRÍA EN CIENCIAS con orientación en QUÍMICA ANALÍTICA AMBIENTAL

2011

#### RESUMEN

Grimaldo Hernández Cinthya Denisse

Fecha de Graduación:

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Ciencias Químicas

Título del Estudio: EVALUACIÓN DEL EFECTO DE ENMIENDAS SOBRE LA

FITOESTABILIZACIÓN DE UN SUELO CONTAMINADO POR Pb Y Zn.

Número de páginas: Candidato para el grado de Maestría en

Ciencias con orientación en Química Analítica

Ambiental.

Área de Estudio: Química Analítica Ambiental.

**Propósito y Método del Estudio:** El propósito de este estudio fue determinar el efecto de la aplicación de enmiendas a un suelo contaminado por Pb (2147 mg.Kg<sup>-1</sup>) y Zn (5113 mg.Kg<sup>-1</sup>) en: 1) el desarrollo de plantas utilizadas para la fitoestabilización, 2) la biodisponibilidad de los contaminantes en suelo y plantas 3) la concentración de Partículas Suspendidas Totales (PST) y su contenido de Pb y Zn en el aire ambiente de la zona experimental. El estudio se realizó en 2 fases principales, en la primera utilizó un cuadrante control (25 m² por cuadrante) sin enmienda y uno con enmienda, se evaluó la biodisponibilidad de metales y se tomaron muestras simultaneas de PST de cada cuadrante. En la fase 2 se sembró *Cynodon dactylon* var. Daniela en ambos cuadrantes, tras 5 meses de crecimiento se tomaron muestras simultáneas de PST en cada cuadrante y se analizaron las plantas.

**Contribuciones y Conclusiones:** Se encontró que bajo las condiciones experimentales de campo, la aplicación de cal (2% p/p) y aserrín (2.5% p/p) disminuyó la concentración de Pb y Zn biodisponible de 1 y 1.1 mg.L<sup>-1</sup> a 0.5 y 0.4 mg.L<sup>-1</sup> respectivamente (fase 1) y aumentó la producción de biomasa al doble, e hizo más efectiva la fitoestabilización al observarse una disminución significativa (p<0.05) de la concentración de Pb y Zn en las PST del aire ambiente cuando se aplican ambas técnicas (fase 2).

FIRMA DEL ASESOR: _	
---------------------	--

## **AGRADECIMIENTOS**

# **DEDICATORIA**

# **TABLA DE CONTENIDO**

Capitulo	Página
RESUMEN	i
AGRADECIMIENTOS	ii
DEDICATORIA	ii
TABLA DE CONTENIDO	ii
LISTA DE TABLAS	V
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE IMAGENES	ix
LISTA DE ABREVIATURAS	x
INTRODUCCIÓN	1
1.1 Contaminación del Suelo por Metales Pesados	1
1.2 Movilización de Metales en el Ambiente	2
1.2.1 Suelo y Subsuelo	2
1.2.2 Partículas Suspendidas Totales	3
1.2.3 Efectos Toxicológicos en la Salud	4

1.3	Fitoestabilización	6	
1.3	3.1 Características de las Plantas Utilizadas en la Fitoestabilización	6	
1.4	Aplicación de Enmiendas	7	
1.5	Hipótesis	8	
1.6	Aportación Científica	9	
1.7	Objetivo general	10	
1.8	Objetivos específicos	10	
Materia	ales y Métodos11		
2.1 E	Equipos y Material	11	
2.2 5	Sitio de Muestreo	12	
2.2	2.1 Muestreo	12	
2.2	2.2.2 Caracterización14		
2.3 F	Pruebas Preliminares	21	
2.3	3.1 Selección de Enmiendas	21	
2.3	3.2 Mezcla de Enmiendas	24	
2.3	3.3 Selección de la Planta	24	
2.3	3.4 Muestreo de Partículas Suspendidas Totales (PST)	30	
2.3	Prueba Piloto de Fitoestabilización	34	
24	Disposición de Residuos	39	

2	2.5	Control de Calidad de Datos		
2	2.6	Ana	álisis Estadístico	40
Re	sulta	dos	y Discusiones	<b>11</b>
3	3.1	Mu	estreo	41
3	3.2	Cai	racterización del suelo	42
3	3.3	Pru	ıebas Preliminares	45
	3.3.	.1	Selección de Enmiendas	45
	3.3.	.2	Mezcla de Enmiendas	50
	3.3.	.3	Selección de la planta	53
	3.3.	.4	Muestreo Preliminar de PST	57
3	3.4	Pru	ueba Piloto de Fitoestabilización	58
CC	NCL	.USI	ONES6	36
Bił	olioar	afia		38

## LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
1. Principales efectos toxicológicos de metales pesados en los sere	S
humanos	. 15
2. Descripción del equipo utilizado y su ubicación	. 20
3. Parámetros fisicoquímicos analizados en el suelo del área de estudi	0
y métodos empleados para su determinación	24
4. Corrección de lecturas	. 31
5. Descripción de las enmiendas utilizadas en las pruebas preliminares.	29
6. Diferentes mezclas probadas (p/p)	33
7. Composición química de la solución nutritiva a concentració	n
completa (1X)	. 34
8. Resultados de los parámetros fisicoquímicos medidos al suelo	49
9. Resultados del análisis de textura	50
10. Concentración Total de Pb y Zn en las áreas A, B y C	51
11. Comparación de la concentración de Pb y Zn en el Área C co	n
algunas normas nacionales e internacionales	. 51
12. Porcentaje de Inmovilización (PI) para los diferentes tratamientos	5,
respecto a un control	52
13. Porcentaje de Inmovilización (PI) para los tratamientos de CA y AS	S, 54

respecto a un control,	
14. pH de la solución de suelo para los tratamientos de cal, aserrín y el	
control	56
15. Porcentaje de Inmovilización (PI) para tratamientos de cal y pH de	
la solución de suelo	57
16. Resultados del PI de Zn al aplicar diferentes mezclas de	
enmiendas	58
17. Resultados del PI de Pb al aplicar diferentes mezclas de	
enmiendas	60
18. Resultados de la prueba de Adaptación de Cynodon dactylon a	
crecimiento en suelo agrícola y contaminado	60
19. Resultados de biomasa fresca y morfología de la raíz de dos	
variedades de pasto cultivados en hidroponía por 4 semanas	62
20. Especiación de una solución 1X y una solución 0.2X al agregar	
5mg.L <sup>-1</sup> de Pb y Zn	62
21. Resultados de la prueba de Toxicidad por Pb y Zn (5 mg.L <sup>-1</sup> ) en	
cultivo hidropónico utilizando solución nutritiva 0.2X y un control sin	
metales	63
22. Concentración de PST y concentración de Pb y Zn en ellas en dos	
muestreos realizados en el área de estudio sin tratamiento y	
comparación con algunas referencias nacionales e internacionales	65

23. Resultados de la primer etapa de la prueba de fitoestabilización (sir
vegetación) en campo, después de aplicar 2% de CA y 2.5% de AS
comparada con el control sin tratamiento
24. Resultados de la concentración de PST, Pb y Zn durante 7 días de
muestreo en el aire ambiente de cada cuadrante (CONTROL: sir
enmienda, TRATAMIENTO: con enmienda) de la planta piloto (secciór
2.4). Primer muestreo
25. Resultados de la concentración de PST, Pb y Zn en el aire ambiente
de cada cuadrante (CONTROL: sin enmienda, TRATAMIENTO: cor
enmienda) después de aplicar el pasto. Segundo muestreo
26. Algunas condiciones climatológicas durante los días del muestrec
(valores promedio en 24hrs.)

## **LISTA DE FIGURAS**

Figura	Página
1. Diagrama del muestreo sistemático estratificado de triangulo,	
diamante hexágono de Reetz (1999)	22
2. Triangulo para determinar los nombres texturales del suelo	30
3. a) Charola de 18 pocillos, b) Red de poro cerrado, c) Charola con	
la red	35
4. Esquema de armado del Sistema Hidropónico	36
5. Hoja de cálculo de MS Excel utilizada en el cálculo de PST	41

## **LISTA DE IMAGENES**

Imagen	Página
1. Ubicación de las áreas de estudio. Esquina de las Avenidas	
Guerrero y Progreso, Monterrey, N.L. Imagen obtenida de Google	
Earth	23
2. Ejemplo de raíz escaneada en blanco y negro	37
3. Limpieza del sitio de estudio	43
4. División del sitio de estudio	44
5. Colocación de la tela para impedir la transferencia de PST	44
6. Aplicación de las enmiendas al suelo del sitio de estudio	45
7. Suelo del sitio de estudio durante y después de homogenizar	46
8. A) Cuadrante control sin tratamiento, se observa que el pasto	
solo cubrió aprox. un 40% del área total. B) Cuadrante con	
enmienda, se observa que el pasto cubrió alrededor del 80% del	
área total	

# **LISTA DE ABREVIATURAS**

Abreviatura	Significado
AS	Aserrín
CA	Cal
CC	Capacidad de Campo
CIC	Capacidad de Intercambio Catiónico
CMP	Compost
CNZ	Cenizas
CO	Compósito
CR <sub>T</sub>	Concentración de Referencia Totales
EAA	Espectroscopia de Absorción Atómica
EPA	Agencia de Protección al Ambiente (E.U.A.)
F	Franco
Fa	Franco Arcilloso
Н	Humedad
HS	Hueso
IB	Instituto de Biotecnología, FCB, UANL
LAQC	Laboratorio de Análisis Químico Clínicos, FCQ, UANL
LD	Lodo Industrial

LIA	Laboratorio de Instrumentación Analítica, FCQ, UANL		
LICAA	Laboratorio de Investigación en Ciencias de Alimentos y Ambientales, FCQ, UANL		
LMP	Límite Máximo Permisible		
МО	Materia Orgánica		
ND	No Determinada		
PST	Partículas Suspendidas Totales		
UE	Unión Europea		
ZMM	Zona Metropolitana de Monterrey		

## **CAPITULO 1**

# INTRODUCCIÓN

## 1.1 Contaminación del Suelo por Metales Pesados.

La contaminación por metales pesados (definidos como un grupo de elementos químicos con masa atómica mayor a 50¹) es una de las principales problemáticas ambientales en la actualidad. Debido a que los daños a la salud ocasionados por éstos son severos y en ocasiones asintomáticos, es por ello que se ha puesto especial atención en minimizar la exposición de la población, particularmente a la población infantil, a estos elementos tóxicos.²

Existen diferentes causas por las que recursos naturales, como el suelo, se encuentran contaminados por metales pesados, entre ellas destacan la desmedida explotación minera y energética. La extracción, purificación, refinamiento y uso de metales pesados, aunados a la creciente industrialización y al mal manejo de los residuos generados, han dado como resultado un creciente número de sitios potencialmente riesgosos para la salud.<sup>3</sup> En México, aún en base a los cálculos más conservadores, se estima que el número de sitios contaminados asciende a varios miles. De acuerdo con datos publicados por el INEGI, la superficie de suelo degradado por causas de contaminación en México en el año 1999 fue de 25,967 km².<sup>4</sup> En 1995, la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA), inició una lista preliminar de sitios abandonados y contaminados con residuos peligrosos en todo el país. Algunos

de los sitios inventariados (cinco en el estado de Nuevo León) se encuentran contaminados por más de un tipo de residuos. Entre los contaminantes presentes en las áreas listadas, los metales pesados ocupan el primer lugar. Esto representó cerca del 36% del total de sitios afectados en el año 2004 (61 de 170 sitios).<sup>5</sup>

El impacto que los metales pesados pueden tener sobre el equilibrio del ecosistema, la producción agrícola y la salud humana depende de factores como: la concentración y forma química en la que se presenten.<sup>6</sup>

#### 1.2 Movilización de Metales en el Ambiente

Los metales contaminantes contenidos en el suelo tienen el potencial de ser movilizados por procesos físicos como la erosión, percolación y escurrimientos superficiales, aumentando así el riesgo de ser trasladados al aire y agua.<sup>4</sup> Además de los procesos físicos que inducen la movilidad de metales, existen procesos químicos (e.g. acidificación, formación de complejos solubles) que pueden facilitar su transporte.<sup>7</sup>

#### 1.2.1 Suelo y Subsuelo

Los metales pesados presentes en el suelo son redistribuidos y repartidos lentamente entre los componentes de la fase sólida. Dicha redistribución es caracterizada por una rápida retención inicial y reacciones lentas posteriores, dependiendo de las especies del metal, propiedades del suelo, concentración y tiempo.<sup>8</sup>

Los procesos químicos descritos por los cuales los contaminantes presentes en el suelo pueden movilizarse son: acidificación, cambios en las condiciones rédox (Condiciones oxidantes causan la oxidación y disolución de sulfuros insolubles, mientras que condiciones reductoras pueden conducir a la disolución de óxidos y liberación de sus cationes), complejación de especies metálicas con ligandos orgánicos e inorgánicos, cambios en la composición iónica de la solución de suelo (existen cuatro tipos de efectos: competencia por los sitios de adsorción, formación de complejos solubles, formación de complejos insolubles y efectos de fuerza iónica pueden conducir a la desorción de metales). 9

#### 1.2.2 Partículas Suspendidas Totales

Polvo es el nombre genérico utilizado para describir la materia particulada seca suspendida en el ambiente, se forma cuando las partículas finas se levantan y entran en la atmósfera debido a la acción del viento o actividades antropogénicas. Sus niveles dependen en gran parte de factores climáticos como la lluvia, la temperatura y el viento, generalmente, se genera más polvo en los climas calientes y secos.<sup>10</sup>

Los metales tienen el potencial de trasladarse entre el aire, agua y suelo por largos períodos de tiempo, por lo que es importante contar con herramientas analíticas para estudiar su distribución en el ambiente. <sup>10</sup> Un parámetro importante en la evaluación de la calidad del aire es la concentración de Partículas Suspendidas Totales (PST) y los metales pesados presentes en ellas. <sup>6</sup>

Existen metales, como el Cd, que presentan una movilidad ambiental más elevada que la mayoría de los metales, debido a la solubilidad de sus sales e hidróxidos. Su principal vía de absorción es la vía inhalatoria y es de gran importancia toxicológica ya que la exposición crónica a bajas concentraciones causa efectos entre los que destacan las enfermedades obstructivas pulmonares crónicas. También están algunos metales como el Pb considerado como un contaminante de referencia en el aire, que aún en concentraciones de mg·Kg-1 tienen la capacidad de causar alteraciones graves a la salud. Se la salud.

#### 1.2.3 Efectos Toxicológicos en la Salud

La exposición a sustancias tóxicas como los metales pesados tiene graves consecuencias para la salud, entre los metales más relevantes toxicológicamente se pueden citar al plomo, cadmio, arsénico, cobre, cromo, niquel, mercurio y zinc.<sup>14</sup> Los principales efectos adversos contra la salud se describen en la siguiente Tabla:

Tabla 1. Principales efectos toxicológicos de metales pesados en los seres humanos.

Nombre químico	Exposición a corto plazo	Exposición a largo plazo	Síntomas
Arsénico	Ojos, piel, aparato respiratorio, riñones, hígado, tracto GI	Piel, hígado, SNC, cancerígeno, posible toxicidad reproductora	Dolor torácico, dolor abdominal, tos, cefalea, debilidad, irritante, diarrea, nauseas, vómito

Cadmio	Ojos, aparato respiratorio y pulmones	Pulmones y riñones	Tos, cefalea, enrrojecimiento de ojos, dolor abdominal, diarrea, nauseas, vómito lesiones renales, enfisemas, anemia hipocrómica, pérdida del sentido del olfato, cáncer pulmonar.		
Cobre	Ojos	Piel y pulmones	Nausea, vómito, diarrea, sudoración, hemolisis intravascular, posible fallo renal, convulsiones, coma.		
Cromo	Ojos, piel, aparato respiratorio, pulmones, riñones	Piel, asma, pulmones, riñones	Irritación o corrosión cutáneo- mucosa, reacciones cutáneas de tipo alérgico o ulceraciones de la piel, ulceras, dermatitis, rinorrea, lesiones del tabique nasal, enrojecimiento de la garganta, tos, cefalea, disnea, necrosis renal, necrosis hepática, hemorragia gastrointestinal, cáncer de pulmón.		
Mercurio	Ojos, piel, pulmones, SNC	SNC, riñones	Irritación pulmonar (neumonía química), edema pulmonar agudo, afección de la función renal, trastornos renales, digestivos, mentales y nerviosos.		
Níquel	Ojos, aparato respiratorio	Piel, ojos, pulmones, posible cancerígeno	Alergias, rinitis, sinusitis, enfermedades respiratorias; cáncer de pulmón, cavidades nasales y otros órganos.		
Plomo		Riñones, efectos sobre la fertilidad	Deficiencias neurológicas, problemas de fatiga y concentración, neuropatía periférica, parálisis, deficiencia en la producción de hemoglobina, impide la maduración celular y el desarrollo de huesos y dientes, hipertensión, aminoaciduria, glicosuria, abortos y muertes fetales, diferentes tipos de cánceres.		
Zinc	Aparato respiratorio, hígado, riñones, corazón, SNC		Irritación gastrointestinal, fiebre, nausea, vómito, diarrea, ulceras cutáneas, erosión dental, ataques de escalofríos, fiebre irregular, sudoración profusa, náuseas, sed, cefalea, dolores en las extremidades, sensación de extremo cansancio, edema pulmonar, bronconeumonía, muerte por fallas respiratorias.		
GI: Gastrointestinal, SNC: Sistema Nervioso Central. Los datos sobre la exposición a corto y largo plazo se han					

GI: Gastrointestinal, SNC: Sistema Nervioso Central. Los datos sobre la exposición a corto y largo plazo se han adaptado de la serie de Tarjetas Internacionales de Seguridad de las Sustancias Químicas (ICSC) elaboradas por el Programa Internacional de Seguridad de las Sustancias Químicas.

Fuente: Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo (Nordberg, 2001)<sup>14</sup>.

#### 1.3 Fitoestabilización

Con el objetivo de disminuir la movilidad de los metales contenidos en el suelo, especialmente en áreas extensas, en diversos estudios se ha utilizado la fitoestabilización, que es una técnica basada en el uso de plantas (específicamente de sus raíces) para inmovilizar los contaminantes del suelo, evitando así su propagación en el ambiente. <sup>15</sup> Una de las ventajas de la fitoestabilización es su aplicación *in situ*, lo cual, al minimizar la alteración del suelo, resulta por lo general considerablemente más económica con respecto a otras técnicas de uso común. De esta forma, esta técnica puede ser aplicada en suelos contaminados donde no es factible o resulta muy costoso el empleo de otras técnicas tradicionales.<sup>7</sup>

Esta tecnología es utilizada principalmente en sitios contaminados con metales pesados, no cultivables en la actualidad, baldíos e inestables, cuya principal necesidad es ser revegetados con fines de restauración y que con el tiempo sea posible reducir su nocividad.<sup>16</sup>

# 1.3.1 Características de las Plantas Utilizadas en la Fitoestabilización

La fitoestabilización idealmente requiere de plantas adaptables al lugar de siembra y que logren atrapar los metales en sus raíces. Deben ser plantas tolerantes y no acumuladoras del contaminante presente en el suelo, así como tener una buena producción de raíces y una alta densidad de siembra.<sup>17</sup>

# 1.4 Aplicación de Enmiendas

Una forma recientemente estudiada para mejorar la eficiencia de la fitoestabilización es mediante la aplicación de enmiendas agrícolas al suelo. Por enmienda se entiende cualquier sustancia o mezcla de sustancias añadidas al suelo para mejorar o modificar sus propiedades. Para su uso en programas de fitoestabilización, las enmiendas deben tener características que permitan atenuar los efectos adversos (e.g. fitoacumulación, toxicidad en animales, daño en la salud humana) causados por la presencia de contaminantes en el suelo. Idealmente debe ser económica, de fácil aplicación, riesgo tóxico bajo, no causar efectos adversos en la estructura y fertilidad del suelo y debe ser compatible con las plantas usadas para la revegetación.

Con la aplicación de enmiendas al suelo, se pueden mejorar las propiedades físicas (textura, estructura, composición) y químicas (pH, capacidad de intercambio catiónico) del suelo evitando una movilidad excesiva de los contaminantes presentes. Algunas enmiendas aportan también materia orgánica y nutrientes que favorecen el desarrollo de las plantas utilizadas para la revegetación. <sup>7</sup>

# 1.5 Hipótesis

La aplicación de enmiendas a un suelo contaminado por Pb y Zn favorece el desarrollo de las especies vegetales utilizadas para la fitoestabilización, disminuye la biodisponibilidad de Pb y Zn en el suelo, la concentración total de PST en el aire ambiente del área de estudio y su contenido de Pb y Zn.

# 1.6 Aportación Científica

El presente trabajo pretende identificar materiales de bajo costo en la región para ser utilizados como enmiendas y evaluar su efectividad en la inmovilización de metales presentes en un sitio, así como investigar la relación entre la aplicación de fitoestabilización asistida por enmiendas y la transferencia de metales a la atmósfera.

# 1.7 Objetivo general

 Evaluar el efecto de la aplicación de enmiendas sobre la fitoestabilización de un suelo contaminado por Pb y Zn.

# 1.8 Objetivos específicos

- Seleccionar la especie vegetal a utilizar en la fitoestabilización, de acuerdo a su adaptación al clima, tolerancia a metales, producción de biomasa y raíces.
- Evaluar la capacidad de diferentes enmiendas agrícolas (Cal, Aserrín,
   Compósito de Carbón y Bentonita, Hueso de Pollo, Cenizas, Compost,
   Lodo Industrial) para inmovilizar Pb y Zn en suelo.
- Realizar una prueba piloto de fitoestabilización asistida por enmiendas en un suelo contaminado con Pb y Zn, evaluando la movilidad de ambos metales en suelo y aire.

# **CAPITULO 2**

# **MATERIALES Y MÉTODOS**

# 2.1 Equipos y Material

Tabla 2. Descripción del equipo y su ubicación.

Equipo (Especificaciones)	Ubicación
Equipo de Absorción Atómica (GBC 932 AA)	LAI
Medidor de pH y Conductividad(HANNA 211)	LAI
Balanza Analítica (AND HR-200)	LICAA
Centrífuga (DAMON IEC CS)	LAQC
Estufa de Aireación (Quincy Lab. Inc. 40GC)	LICAA
<b>Medidor de Alto Volumen (MAV)</b> (Thermo Andersen G991)	LICAA
Plancha de Termoagitación (Thermolyne Cimarec 3)	IB
Campana de Extracción (Labconco Basic 47)	IB
Tamiz (2mm)	IB
Material de vidrio básico de laboratorio	LICAA
Material para Muestreo (pala, bolsas de plástico, etiquetas)	LICAA

#### 2.2 Sitio de Muestreo

En el Área Metropolitana de Monterrey existe una zona localizada entre las Avenidas Vicente Guerrero y Adolfo Ruiz Cortines de la colonia La Victoria, donde la empresa Industrial Minera México, S. A. de C. V. (planta Monterrey) inició operaciones en el año de 1890. Esta empresa fue clausurada por la PROFEPA en 1993 debido a que se encontró evidencia de mal manejo y confinamiento ilegal de 500 mil toneladas de residuos peligrosos ricos en As, Pb, Cu, Zn y Cd. Estudios recientes realizados en un predio aledaño, localizado entre las calles Guerrero y Progreso, encontraron concentraciones de metales en el suelo que excedían los LMP nacionales e internacionales. <sup>20</sup>

#### 2.2.1 Muestreo

La toma de muestras se llevó a cabo de acuerdo a lo descrito en la NOM-021-SEMARNAT-2000 que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis,<sup>21</sup> siguiendo el método de Reetz, que consiste en dividir el sitio de muestreo en una cuadricula de donde se tomó una muestra de cada cuadrante como se muestra en la Figura 1. Para disminuir el sesgo y asegurar un muestreo representativo se utilizó un patrón escalonado.<sup>22</sup>

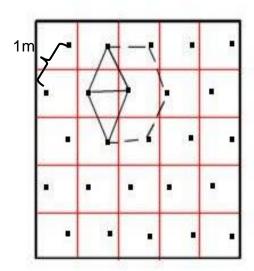


Figura 1. Diagrama del muestreo sistemático estratificado de triangulo, diamante o hexágono de Reetz (1999).

De acuerdo a su localización, facilidad de acceso, ausencia de vegetación en algunos casos y reportes, <sup>20</sup> se seleccionaron tres áreas de muestreo que fueron designadas como áreas A (35m²), B (48m²) y C (36m²) (Imagen 1). De cada área se tomaron muestras puntuales de aproximadamente 350-400g, que posteriormente fueron homogenizadas para formar una muestra compuesta por sitio (entre 15-20kg c/u).

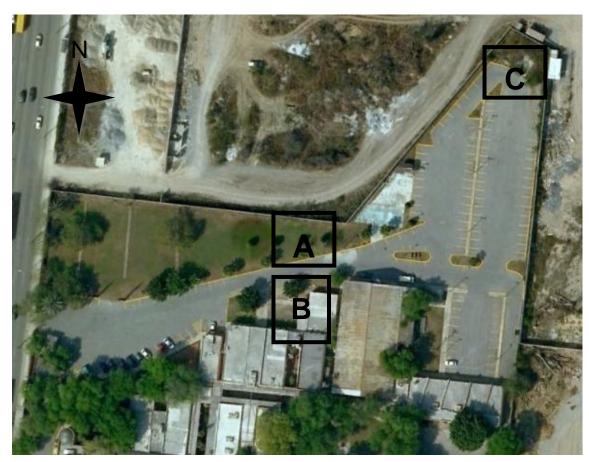


Imagen 1. Ubicación de las áreas de estudio. Esquina de las Avenidas Guerrero y Progreso, Monterrey, N.L. Imagen obtenida de Google Earth.

#### 2.2.2 Caracterización

# Preparación de las muestras

Cada muestra compuesta se homogenizó y dejó secar al sol durante 12 horas, posteriormente se hicieron pasar por un tamiz de 2mm, se etiquetaron y almacenaron en bolsas de plástico para su análisis. En la Tabla 3 se muestran los análisis realizados al suelo y la metodología seguida.

Tabla 3. Parámetros fisicoquímicos analizados en el suelo del área de estudio y métodos empleados para su determinación.

Parámetro	Método		
рН	NOM-021-SEMARNAT-2000		
Materia Orgánica	NOM-021-SEMARNAT-2000		
Humedad	NOM-021-SEMARNAT-2000		
Capacidad de Campo	NOM-021-SEMARNAT-2000		
Textura	NOM-021-SEMARNAT-2000		
Cuantificación de Metales	ISO 11466		

#### Medición de pH

Una muestra de suelo puede tener un valor particular de pH al momento de tomarse. La medición de pH se realizó por el método electrométrico, el cual consiste en medir el potencial de un electrodo sensible al ion H<sup>+</sup> y compararlo con un electrodo de referencia, que generalmente es de calomel.<sup>23</sup>

- Se pesaron 10g de suelo seco (65°C, 48h) en un frasco de vidrio de boca ancha y se añadieron 20ml de agua destilada.
- Se agitó manualmente cada 5min por 30min.
- Se dejó reposar 15min.
- Se mezcló nuevamente la suspensión, se introdujo el electrodo y se registró el pH.

#### Materia Orgánica

Este análisis determina toda la materia orgánica presente en el suelo, incluyendo los desperdicios, la fracción ligera, biomasa microbiana, la materia orgánica soluble y la materia orgánica estabilizada (humus).<sup>23</sup> La materia orgánica se cuantificó indirectamente calculando la perdida en peso del suelo tras llevar la muestra a ignición.

- Se tararon los crisoles a 360 °C. Se pesaron muestras de 5g de suelo seco.
- Se calcinaron las muestras utilizando un mechero Bunsen y se dejaron enfriar a temperatura ambiente durante 30 minutos en un desecador.
- Las muestras se introdujeron en una mufla a 360 °C durante dos horas, se dejaron enfriar en desecador y se registraron los pesos.
- La ecuación 1 se utilizó para calcular el porcentaje de materia orgánica presente en el suelo analizado.

% Materia Orgánica = 
$$\frac{100 - (W1 - W2) \times 100}{W}$$
 (1)

Dónde:

W1 = Peso del crisol más muestra (después de ignición).

W2 = Peso del crisol tarado.

W = Peso de la muestra seca.

#### Humedad

En el laboratorio, la determinación de muchas propiedades químicas y físicas del suelo implican la determinación del contenido de agua en el suelo. En este sentido, el contenido de agua del suelo ha sido expresado como la relación de la masa de una muestra después de que ha sido secada y llevada a peso constante. Cabe mencionar que el término de secado es algo subjetivo, razón por la cual se ha definido una temperatura estándar entre 100 y 110°C y se hace referencia al porcentaje. <sup>23</sup>

- Se pesó un vaso de precipitado de 250ml vacío.
- Se agregaron 100g de suelo previamente secado al sol y tamizado.
- Se colocó en la estufa a 105°C por 24h.
- Se llevó a peso constante y se calculó el porcentaje de humedad por diferencia en peso, con la ecuación 2.

% de humedad = 
$$\frac{(M1-M2)\times 100}{M}$$
 (2)

Dónde:

M1= Peso del crisol más muestra húmeda

M2= Peso del crisol más muestra seca

M= Peso de la muestra sola.

#### Capacidad de Campo

La capacidad de campo (CC) se define como la cantidad de agua que un suelo retiene en contra de la fuerza de gravedad cuando se le deja drenar libremente, es un concepto de gran utilidad para la estimación de la cantidad de agua contenida en el suelo y de la cual pueden disponer las plantas.<sup>23</sup>

El método para medir la CC consiste en determinar la máxima cantidad de agua que puede retener una muestra de suelo.

- En un recipiente de plástico de tapa hermética, se pesaron 200g de suelo seco al aire de contenido de humedad conocido y se registró el peso del suelo más el recipiente.
- Se agregó agua destilada al suelo mezclando lo mejor posible con la ayuda de una espátula, hasta alcanzar el punto aproximado de saturación.
- Se tapó el recipiente y se dejó reposar una hora para que el suelo embebiera el agua, posteriormente se agregó agua poco a poco hasta que la pasta brillara y fluyera ligeramente al inclinar el recipiente.
- Se dejó reposar toda la noche y a la mañana siguiente se verificó que la pasta conservara las características descritas.
- Se pesó nuevamente el recipiente con el suelo y por diferencia se conoce el peso del agua, utilizando la ecuación 3.

$$CC = \frac{Peso\ del\ agua + Contenido\ de\ humedad}{Peso\ de\ suelo\ seco}\ x\ 100$$
 (3)

#### **Textura**

Para determinar la textura se utilizó el método del hidrómetro, que consiste en la separación de la parte inorgánica del suelo en fracciones de diversos tamaños y la determinación de la proporción de estas fracciones; el procedimiento se aplica a muestras de menos de 2mm de diámetro.<sup>23</sup>

- Se pesaron 40g de suelo seco al aire y se transfirieron a un vaso de precipitado, donde se agitó para homogeneizar la muestra.
- Se agregaron 100 ml de agua destilada, se dejó reposar 5min y después se homogeneizó con la ayuda de una batidora industrial por un lapso de 15 min.
- La mezcla fue transferida a una probeta de 1130 ml y se tomó la temperatura de la suspensión. Se agitó de forma constante por un minuto, se detuvo y se introdujo el hidrómetro de Bouyoucos a los 40 segundos para tomar la primera lectura.
- Dos horas después se tomó la segunda lectura del hidrómetro y de la temperatura.

Una vez tomadas las dos lecturas se utilizó la Tabla 4 para corrección de las lecturas en función de la temperatura, se calculó el porcentaje de arena, arcilla y limo utilizando las ecuaciones 4, 5 y 6:

% de Arena = 
$$100 - (2 \times 1^{\frac{3}{2}} lectura corregida)$$
 (4)

% de Arcilla = 
$$2 \times 2^{3}$$
 lectura corregida (5)

$$\% \ de \ Limo = 100 - (\% \ Arena + \% \ Arcilla)$$
 (6)

Tabla 4. Corrección de lecturas.

Temperatura ºC	Factor de Conversión		
14	- 1.46		
16	- 0.98		
18	- 0.44		
19.5	0.00		
20	0.18		
22	0.89		
24	1.16		
26	2.41		
28	4.1		

Para la determinación del nombre textural se observa el porcentaje de arcilla y se traza una línea paralela a la base del triángulo, como se muestra en la Figura 2, posteriormente con el porcentaje de limo se traza una línea paralela del lado de las arcillas. El área en la que se intersectan las dos líneas, es la textura del suelo. Para confirmar, se toma el porcentaje de arena y se traza una línea paralela al lado derecho del triángulo y deben intersectarse en el mismo punto.

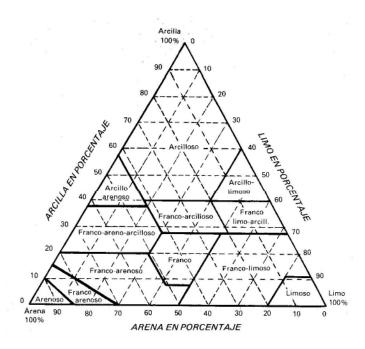


Figura 2. Triangulo para determinar los nombres texturales del suelo.

# 2.3 Pruebas Preliminares

Las pruebas preliminares se realizaron con el objetivo de seleccionar la enmienda y la planta que se utilizarán en la prueba de fitoestabilización en campo.

#### 2.3.1 Selección de Enmiendas

Se realizaron varias pruebas de inmovilización de metales en suelo aplicando enmiendas reportadas en la literatura (cenizas, 24,25 lodo de industria papelera, 24,26 hueso 27, cal 24,26) y alternativas disponibles localmente (residuos de la industria citrícola, compósito de carbón y bentonita y aserrín 28). En la Tabla 5 se muestra una breve descripción de las enmiendas utilizadas para esta investigación.

Tabla 5. Descripción de las enmiendas utilizadas en las pruebas preliminares.

Enmienda	Descripción			
Cenizas	Residuo de carbón vegetal			
Lodo industrial	Residuo con alto contenido de celulosa			
	proveniente de la planta tratadora de aguas de			
	COPAMEX S.A. de C. V.			
Hueso	Hueso de pollo seco en la estufa (105°, 24h) y			
	molido en una licuadora industrial			
Cal	Óxido de calcio comercial (PIRACAL)			
Residuo de la industria	Cascara de naranja seca en la estufa (105°C,			
citrícola	24h) y molida en una licuadora industrial.			
Compósito de carbón y Sintetizado en el Laboratorio de Materiales				
bentonita	la FCQ, UANL.			
Aserrín	Aserrín en polvo de madera de pino.			

Cada enmienda se probó a tres diferentes concentraciones 1%, 5% y 10% p/p.

 Se pesaron 21 lotes de 60g de suelo seco y se añadieron las diferentes concentraciones de cada una de las enmiendas (ej. para preparar cenizas al 1% se pesaron 60g de suelo + 0.6g de cenizas) y se homogenizaron.

- Se realizó la extracción de la fracción de metales biodisponibles por duplicado en viales de plástico de 50ml con una solución de CaCl<sub>2</sub> 0.01M (30 ml de solución / 30g suelo seco), utilizando el método descrito por Rao et al.<sup>29</sup>. Se preparó un control sin enmienda.
- Los tubos fueron agitados (56 rpm) durante 48h con la ayuda de un mezclador de giro vertical, y posteriormente llevados a centrifugación por 10min (4000 rpm) para separar el sobrenadante.
- Se filtró el sobrenadante para eliminar los sólidos que pudieran encontrarse suspendidos, se acidificó la muestra con ácido nítrico y se leyeron por Espectroscopia de Absorción Atómica EAA.
- Con los resultados obtenidos se calculó el Porcentaje de Inmovilización
   (PI) para Pb y Zn como se describe en las ecuaciones:

$$PI = \frac{MI}{MB} x 100 \tag{7}$$

$$MI = MB - MB' \tag{8}$$

Dónde:

PI= Porcentaje de inmovilización

MB= Metal Biodisponible (extraíble con CaCl<sub>2</sub>)

MI= Metal Inmovilizado

MB´= Metal biodisponible (extraíble con CaCl<sub>2</sub>) en suelo tratado con la enmienda

#### 2.3.2 Mezcla de Enmiendas

A partir de los resultados de las pruebas anteriores se prepararon las mezclas (de M1 a M12) con las proporciones que se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Diferentes mezclas probadas (p/p)

	AS 2.5%	AS 5%	AS 7.5%	AS 10%
CL 0.75%	M1	M4	M7	M10
CL 1.5%	M2	M5	M8	M11
CL 2%	M3	M6	M9	M12

#### 2.3.3 Selección de la Planta

La selección de la planta se realizó en base a su adaptación a las condiciones geoclimáticas de la región, tolerancia a metales y producción de raíces. De esta forma se evaluaron dos variedades de pasto bermuda: *Cynodon dactylon* var. Daniela y *Cynodon dactylon* var. Sahara.

#### Adaptación de las plantas al suelo contaminado

- Se realizaron pruebas a las plantas seleccionadas en macetas de 12.5cm de diámetro, utilizando suelo del área seleccionada y controles de suelo agrícola libre de contaminación por metales.<sup>30</sup>
- Se pesaron 500g de suelo seco al aire y cribado en cada maceta y se colocó 1g de semillas.
- Se cultivaron durante seis semanas, regando cada tercer día.
- Al final del experimento se recolectó la parte aérea de la planta para determinar su biomasa fresca y seca (65°C, 48h).

# Determinación del área superficial de la rizósfera

Este experimento se realizó con la finalidad de establecer si existe diferencia entre la producción de raíces de las plantas seleccionadas bajo condiciones controladas en hidroponía.

 Se realizó un experimento hidropónico utilizando una solución nutritiva con todos los micronutrientes y macronutrientes necesarios para el desarrollo de las plantas como se muestra en la Tabla 7.

Tabla 7. Composición química de la solución nutritiva a concentración completa (1X).<sup>31</sup>

Nombre químico	Concentración (m <i>M</i> )
Nitrato de potasio	5
Difosfato de potasio	1
Sulfato de magnesio heptahidratado	2
Nitrato de calcio	6.2
Ácido bórico	46 (μ <i>M</i> )
Cloruro de magnesio	9.1 (μ <i>M</i> )
Sulfato de zinc	765 (n <i>M</i> )
Sulfato de cobre	320 (n <i>M</i> )
Molibdato de amonio	15 (n <i>M</i> )
Sulfato de fierro	20 (μ <i>M</i> )
Ácido etilen diaminotetraacético	20 (μ <i>M</i> )

 A una base de unicel de18 pocillos de 2cm de diámetro se le colocó una red de poro cerrado para que sirviera de soporte para las semillas (Figura 3)

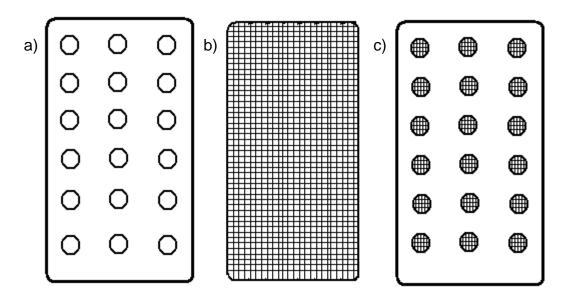


Figura 3. a) Base de unicel de 18 pocillos, b) Red de poro cerrado

- c) Charola con la red.
- Se colocaron 0.1g de semillas en cada uno de los pocillos de la charola.
- La charola con las semillas se colocó en un recipiente de 2.5 litros que contenía la solución hidropónica y se le colocó un dispensador de aire (Figura 4).

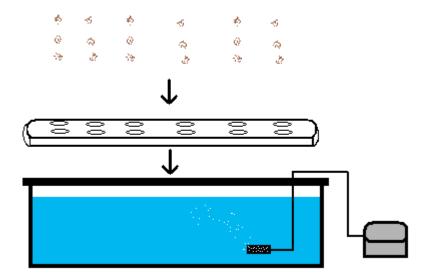


Figura 4. Esquema de armado del Sistema Hidropónico.

- Se cultivaron las plantas durante cuatro semanas, para posteriormente cosechar por separado tallo y raíz.
- Se pesó la biomasa aérea fresca de inmediato.
- Las raíces se colocaron en papel absorbente hasta que se eliminó el exceso de humedad.
- Posteriormente con la ayuda de una esponja las raíces fueron teñidas con tinta china negra.
- Las raíces fueron escaneadas directamente en el vidrio como imágenes en blanco y negro (Imagen 2), para posteriormente procesar las imágenes utilizando el software Rootedge 2.3b<sup>32</sup> para obtener el área superficial de la rizósfera, perímetro total y longitud total de la raíz.



Imagen 2. Ejemplo de raíz escaneada en blanco y negro.

Rootedge 2.3b es un programa capaz de medir áreas, perímetros y longitudes en imágenes binarias. Fue desarrollado para la medición de parámetros morfológicos como área, longitud y perímetro de las raíces de las plantas.<sup>32</sup>

### Prueba de Tolerancia a Metales

Esta prueba se realizó con la finalidad de establecer si las variedades de pasto probadas eran capaces de tolerar la contaminación a la que se expondrían en las pruebas de campo.

# Visual Minteq 2.61<sup>33</sup>

Es un modelo de equilibrio químico que puede ser utilizado para calcular la composición en equilibrio de soluciones acuosas o en sistemas acuosos naturales. Se ha utilizado como una herramienta cuantitativa para predecir el comportamiento en equilibrio de los metales en una variedad de ambientes

químicos. Este programa incluye una extensa base de datos termodinámicos adecuada para la resolución de un gran número de problemas sin la necesidad de ingresar constantes en equilibrio adicionales.

- El programa Visual Minteq 2.61 se utilizó para comprobar que al utilizar una solución nutritiva a concentración 0.2X y añadiendo 5 ppm de Pb y Zn (Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> y Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, el mayor porcentaje de éstos metales se encontraran en forma iónica y disponibles para la planta, simulando así las condiciones a las que se expondrían en un suelo contaminado.
- Se realizó un experimento hidropónico adicionando 5 ppm de Pb y Zn a una dilución de 0.2X de la solución nutritiva completa (Tabla 7) y se preparó un blanco con la dilución 0.2X de la solución nutritiva.
- A dos bases de unicel de 18 pocillos de 2cm de diámetro se les colocó una red de poro cerrado que sirviera de soporte para las semillas (Figura 3).
- Se colocaron 0.1g de semillas en cada uno de los pocillos de las charolas.
- Se armaron dos sistemas hidropónicos como se muestra en la Figura 4,
   uno para el tratamiento con Pb y Zn y otro para el blanco.
- Se cultivaron las plantas durante cuatro semanas, para posteriormente cosechar por separado tallo y raíz.
- Se pesó la biomasa aérea fresca de inmediato.
- Las raíces se colocaron en papel absorbente hasta que se eliminó el exceso de humedad.

- Posteriormente con la ayuda de una esponja fueron teñidas con tinta china negra.
- Las raíces fueron escaneadas directamente en el vidrio como imágenes en blanco y negro, para posteriormente procesar las imágenes utilizando el software Rootedge 2.3b<sup>32</sup> para obtener el área superficial de la rizósfera, perímetro total y longitud total de la raíz.

## 2.3.4 Muestreo de Partículas Suspendidas Totales (PST)

Se realizaron dos pruebas preliminares con un Muestreador de Alto Volumen (MAV) en el área de estudio los días 28 y 29 de Mayo del 2010, para estimar la transferencia al aire del Pb y Zn presentes en el suelo, siguiendo la metodología descrita en la NOM-035.SEMARNAT-1993.<sup>34</sup>

- Se colocaron los filtros de fibra de vidrio (Microfibra de vidrio Whatman de 8 x 10 pulgadas) dentro de un desecador 24h antes de la medición y posteriormente fueron pesados.
- Se encendió el MAV por 5min para lograr la temperatura de operación y se procedió con la calibración.

### Calibración del Muestreador de Alto Volumen (MAV)

- Se conectó el patrón de transferencia a la entrada del muestreador y el manómetro al patrón de transferencia y se dejó trabajar el equipo durante
   5 min para lograr la temperatura de operación.
- Se colocó la carta graficadora.

- Se ajustó la resistencia variable para lograr la velocidad de flujo deseada y se registró la caída de presión.
- Se repitió el paso anterior para 5 velocidades de flujo diferentes en un rango de 1.1 – 1.7 m³ patrón/min.
- Se trazó una curva de calibración con los valores obtenidos

### Muestreo

- Utilizando guantes, se colocó el filtro cuidadosamente en el equipo y se encendió.
- Se registró la hora, temperatura ambiente y presión barométrica (PCE THB 40) y se dejó funcionar el equipo durante 24 horas.
- Transcurrido este tiempo se apagó el muestreador y se retiró el filtro, cuidadosamente, utilizando guantes y tocándolo únicamente de los bordes, se dobló a lo largo, de modo que solamente se solapen entre si las superficies con partículas, posteriormente se colocó en un sobre manila.
- Se retiró la carta graficadora, de donde se obtuvieron los valores promedio por hora de pies cúbicos de aire succionados por el equipo durante las horas de muestreo.
- Se pesó nuevamente el filtro y se registró el peso.

### Procesamiento de los Datos

Se alimentaron los datos obtenidos de la curva de calibración, de la carta graficadora y la ganancia en peso del filtro, en una plantilla de EXCEL (Figura 5) realizada basándose en los cálculos descritos en el ANEXO 5 y 6 de la NOM-035.SEMARNAT-1993.<sup>34</sup>

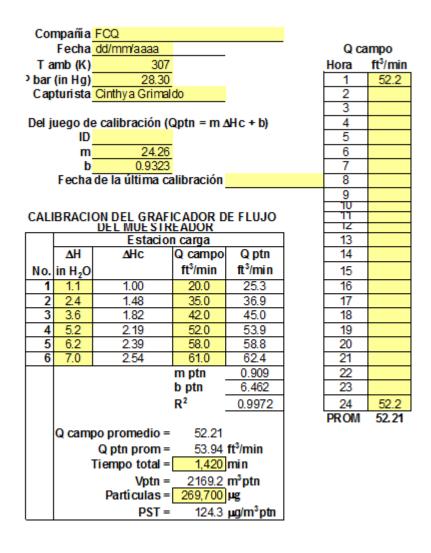


Figura 5. Hoja de cálculo de MS Excel utilizada en el cálculo de PST

# Digestión del filtro (Método EPA: 40 CFR 50 Apéndice G)

- Teniendo precaución de no perder muestra, se recortó el filtro por la mitad.
- La mitad del filtro se recortó en tiras pequeñas y éstas se colocaron en un matraz erlenmeyer de 250 ml.
- Se agregaron aproximadamente 40 ml de HNO<sub>3</sub> 3M, hasta cubrir la muestra.
- Se colocó el matraz en una plancha de calentamiento a 250 °C y se cubrió con un vidrio de reloj.
- Se dejó en ebullición durante 30 min cuidando que no se secara el filtro.
- Pasados los 30 min se retiró el matraz de la plancha de calentamiento hasta que alcanzó la temperatura ambiente.
- Se decantó el líquido a través de un filtro, y se colectó en un matraz de aforación de 100 ml.
- Se agregó agua destilada al matraz erlenmeyer hasta cubrir el filtro (40ml), se agitó y se esperó por al menos 30 min ya que este es un paso crítico ya que permite que el HNO<sub>3</sub> atrapado en el filtro se difunda en el agua.
- Se filtró el contenido del matraz al mismo matraz de aforación que ya contenía el primer filtrado y se aforó a 100 ml.
- Las muestras se analizaron mediante EAA para determinar Pb y Zn.

# 2.3 Prueba Piloto de Fitoestabilización

El primer paso a seguir fue la limpieza del sitio (Imagen 3) que consistió
en remover piedras, escombro y basura, así como el desmonte de
malezas que se encontraban en el sitio elegido entre las tres áreas
descritas en la sección 2.2.1.



Imagen 3. Limpieza del sitio de estudio

• El área se dividió en dos unidades experimentales colindantes y se delimitó con una barrera de tela tergalina de poro cerrado de 1.5 m de altura, sostenida por una estructura de madera de 5.1m x 5.7m x 2m, para impedir la movilidad de PST de una unidad experimental a otra por acción de viento (Imágenes 4 y 5).

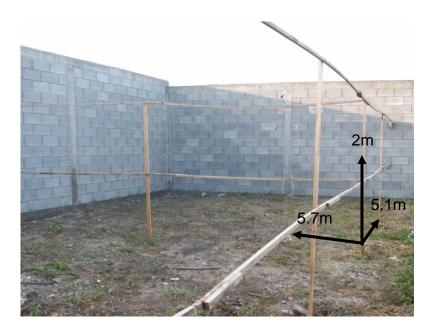


Imagen 4. División del sitio de estudio



Imagen 5. Colocación de la tela para impedir la transferencia de PST.

- El estudio se llevó a cabo en dos etapas, la primera consistió en aplicar las enmiendas seleccionadas (sección 2.3.2) en uno de los cuadrantes, mientras el otro se conservó sin tratamiento (Control).
- La aplicación de la enmienda se realizó en los primeros 15cm de la capa superficial, ya que en el caso de los pastos ésta es considerada como la zona de nutrición, donde se desarrolla la rizósfera.<sup>23</sup> Conociendo que la densidad del suelo es de 1.12 g/cm³, y que el tratamiento se aplicaría a los primeros 15cm de profundad se calcularon los Kg de enmienda que se aplicarían al suelo.
- Se aplicaron 88 Kg de cal (2% p/p) y 107 Kg (2.5% p/p) de aserrín (Imagen 6). Se mezcló hasta homogenizar el suelo (Imagen 7).



Imagen 6. Aplicación de las enmiendas al suelo del sitio de estudio.



Imagen 7. Suelo del sitio de estudio durante y después de homogenizar.

- Para evaluar el efecto en la biodisponibilidad de metales en el suelo se realizó un muestreo del área superficial en cada una de las unidades experimentales después de aplicado el tratamiento, siguiendo el patrón triángulo-rombo-hexágono de Reetz (1999), recolectándose un total de 25 submuestras de 40-50g c/u que fueron mezcladas y homogenizadas para obtener una muestra compuesta de aproximadamente 1Kg, que fue secada al sol.
- Se realizó una extracción de la fracción de Pb y Zn biodisponibles con CaCl<sub>2</sub> 0.01M (descrito en la sección 2.3.1).
- Se midió pH y conductividad en la solución de suelo
- Posteriormente se acidificaron las muestras a pH 2 con HNO<sub>3</sub> y se midió
   la concentración de Pb y Zn por EAA.
- Para la evaluación del efecto en la movilidad de metales al aire se midió
   la concentración de PST de manera simultánea en ambos cuadrantes

- durante una semana (7 días), los filtros fueron pesados y digeridos para posteriormente ser leídos por EAA (descrito en la sección 2.3.4).
- En la segunda etapa del estudio se sembró el pasto seleccionado de acuerdo a los criterios descritos en la sección 2.3.3 el día 18 de septiembre de 2010 y se cultivó el 11 de febrero de 2011. En la Imagen 8 se muestra la planta piloto al final del experimento, antes de la cosecha.

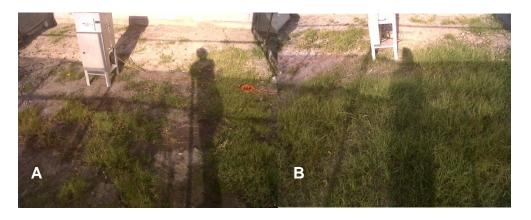


Imagen 8. A) Cuadrante control sin tratamiento, se observa que el pasto solo cubrió aprox. un 40% del área total. B) Cuadrante con enmienda, se observa que el pasto cubrió alrededor del 80% del área total.

 Posteriormente se colectaron 10 muestras representativas de cada cuadrante y se evaluó biomasa fresca y seca, además de la movilidad de metales al aire como se describió anteriormente.

# 2.4 Disposición de Residuos

Los residuos se dispusieron de acuerdo a lo establecido por el Departamento de Medio Ambiente y Seguridad de la Facultad de Ciencias Químicas.

### 2.5 Control de Calidad de Datos.

Para los análisis realizados se prepararon replicas (de 2 a 6 dependiendo de la determinación). Todos los resultados presentados se corrigieron utilizando un blanco. En el caso de las mediciones por EAA, se prepararon estándares de concentraciones conocidas que se introdujeron al azar entre las muestras. Los resultados de solución de suelo fueron corregidos a un 100% de Capacidad de campo.

### 2.6 Análisis Estadístico.

A todos los datos generados del presente estudio se les realizó la prueba de Normalidad de Shapiro-Wilk. En los casos que los datos fueron normales se realizó un análisis de varianza de un factor (ANOVA,  $\alpha$  = 0.05) para determinar diferencias significativas entre los grupos de datos. Cuando los datos fueron significativamente diferentes se procedió a realizar una prueba de comparación contra un grupo control por el método Holm-Sidak.<sup>35</sup>

Finalmente si hubo más de un conjunto de datos significativamente diferente al control se aplicó la prueba de Holm-Sidak para comparación múltiple de medias para determinar si estos resultados fueron significativamente diferentes entre sí. En caso de que la distribución de los datos no fuera normal, se utilizó una prueba de Kruskal-Wallis.<sup>35</sup>

# **CAPITULO 3**

# **RESULTADOS Y DISCUSIONES**

### 3.1 Muestreo

El muestreo se realizó para determinar si alguna de las áreas superaba los LMP de Pb y Zn y establecer cual zona presentaba la mayor contaminación.

Se obtuvieron 35, 48 y 36 muestras puntuales de las áreas A, B y C respectivamente, de aproximadamente 50 g c/u, tomadas en los primeros 30 cm de profundidad. Posteriormente se mezclaron las muestras puntuales por área para generar tres muestras compuestas homogéneas.

Al formar muestras compuestas se minimiza la influencia de las variaciones, por eso es de gran importancia la selección de una técnica de muestreo adecuada.<sup>23</sup> Realizar el muestreo del suelo siguiendo un patrón organizado asegura que los resultados sean representativos de toda el área.<sup>22</sup>

### 3.2 Caracterización del suelo

La Tabla 8 presenta los resultados de algunos análisis efectuados al suelo de las tres áreas seleccionadas.

Tabla 8. Resultados de los parámetros fisicoquímicos medidos al suelo.

Área de Muestreo	рН	% Materia Orgánica	% Capacidad de Campo	% Humedad
Α	$7.9 \pm 0.1$	$7.60 \pm 0.2$	56.1 ± 0.8	$6.53 \pm 0.3$
В	$7.8 \pm 0.1$	11.1 ± 0.1	$73.0 \pm 0.6$	$4.67 \pm 0.4$
С	$7.6 \pm 0.1$	$24.0 \pm 0.1$	60.0 ± 1.5	$3.12 \pm 0.5$
Recomendable*	6.6 - 7.3	3.6-6.0	30 – 40	6 – 8

Resultados promedio (n=2 ±: EE), \*Según la NOM-021.

De acuerdo a la clasificación de la NOM-021-SEMARNAT-2000,<sup>21</sup> los tres suelos analizados caen dentro del rango de suelo medianamente alcalino, esto puede ser debido a la ubicación geográfica ya que existen reportes de que en regiones con escasez de agua y con poca actividad biológica predominan estas condiciones de pH.<sup>36</sup> En cuanto a la materia orgánica, las 3 áreas poseen un alto contenido de ésta, siendo el área C la que tiene el mayor porcentaje, lo que nos indica una buena capacidad para retener nutrientes y humedad.<sup>23</sup> Como era de esperarse, debido al alto contenido de materia orgánica, la capacidad de campo es ligeramente superior a lo normal debido una alta retención de agua por el suelo y la baja capacidad del agua de filtrarse a través del mismo.<sup>37</sup>

### Análisis de Textura

En la Tabla 9 se presentan los resultados obtenidos del análisis granulométrico al suelo de las tres áreas de estudio.

Tabla 9. Resultados del análisis de textura

Área de Muestreo	Lectura Corregida 1	Lectura Corregida 2	% Arena	% Arcilla	% Limo	Textura
Α	28.9 ± 3.3	13.3 ± 2.0	42.1 ± 6.6	26.5 ± 4.0	31.4 ± 2.6	FA
В	$32.4 \pm 1.2$	$16.3 \pm 0.0$	35.1 ± 2.3	$32.5 \pm 1.0$	$32.3 \pm 2.3$	FA
С	26.9 ± 1.3	11.9 ± 1.0	46.1 ± 2.7	23.8 ± 2.0	30.1 ± 0.7	F

Resultados promedio (n=2 ± EE). Temperatura constante a 23 °C.

El suelo de las áreas A y B (FA), posee una mayor cantidad de partículas arcillosas en su composición, por lo tanto es un suelo más propicio a la compactación, por otro lado con el suelo del área C (F), permite una mayor filtración del agua a través de él, así como una mayor aeración del suelo.<sup>37</sup>

### Análisis de Metales Pesados en Suelo

Estudios previos en la zona de estudio revelaron que algunos de los metales que se encontraban en mayor concentración son Pb y Zn,<sup>20</sup> por lo que se decidió realizar un análisis de dichos metales en las muestras obtenidas, los resultados se muestran en la Tabla 10.

Tabla 10. Concentración Total de Pb y Zn en las áreas A, B y C.

Área de muestreo	mg.Kg <sup>-1</sup>					
	Pb Zn					
Α	562 ± 41	7095 ± 338				
В	405 ± 16	6222 ± 198				
С	2147 ± 41	5113 ± 137				

Resultados promedio (n=6 ±: EE)

Se puede apreciar que para el caso del Pb el área C presentó la mayor concentración respecto a las áreas A y B, por lo que se decidió trabajar en esta zona. En la Tabla 11, se comparan los resultados obtenidos con los valores permitidos en la normatividad nacional e internacional vigente.

Tabla 11. Comparación de la concentración de Pb y Zn en el Área C con algunas normas nacionales e internacionales.

	-1 mg⋅Kg		
	Pb	Zn	
Área C	2140±41	5110±137	
NOM-147 <sup>†</sup>	400	-	
NOM-147 <sup>‡</sup>	750	-	
EPA	400	-	
UNIÓN EUROPEA	50-300	150-300	

† Valores para uso agrícola/residencial, CR<sub>T</sub> (Conc. de referencia totales)

‡ Valores para uso industrial, CR<sub>T</sub>

La concentración de Pb encontrado en el área C excede los LMP que marcan las normas nacionales (NOM 147-SEMARNAT/SSA1-2004) e internacionales (EPA, UNION EUROPEA). Para el caso del Zn, no se cuenta con normatividad en el país, pero claramente excede los LMP de la Unión Europea.

# 3.3 Pruebas Preliminares.

### 3.3.1 Selección de Enmiendas

En la Tabla 12 se muestran los resultados de la prueba de inmovilización de Pb y Zn al aplicar las siete enmiendas en el suelo de estudio.

Tabla 12. Porcentaje de Inmovilización (PI) para los diferentes tratamientos, respecto a un control.

		Pb mg.L <sup>-1</sup> (Pl P	b)	Zn mg.L <sup>-1</sup> (Pl Zn)				
CTR		1.14 ± 0.1		$1.34 \pm 0.08$				
	1%	5%	10%	1%	5%	10%		
СО	1.22±0.4(-7)	1.98±0.4(-74)	FR	FR	FR	FR		
LD	1.28±0.2(-13)	FR	1.0±0.4(14)	1.3±0.05(06)	0.6±0.2(51)	0.88±0.2(34)		
AS	0.96±0.2(16)	1.0±0.2(14)	0.46±0.1(61)	0.6±0.2(58)	0.6±0.15(55)	0.68±0.15(50)		
HS	1.52±0.4(-33)	FR	1.4±0.3(-20)	1.1±0.06(19)	1.0±0.4(29)	$0.86 \pm 0.2(32)$		
CA	0.64±0.2(43)	0.5±0.02(57)	0.68±0.1(40)	1.1±0.2(15)	0.35±0.15(76)	0.25±0.2(83)		
CNZ	1.12±0.2(02)	0.86±0.3(24)	0.84±0.2(25)	0.6±0.2(54)	1.4±0.1(-06)	0.75±0.1(47)		
СМР	1.0±0.2(9.3)	1.28±0.4(-13)	1.0±0.15(12)	0.5±0.1(64)	0.53±0.2(61)	0.44±0.05(67)		

Valores negativos significan un aumento en la movilidad del metal. n=2 ± EE CTR: Control. CO: Compost, LD: Lodo industrial, AS: Aserrín, HS: Hueso de pollo, CA: Cal, CNZ: Cenizas, CMP: Compósito, FR= Fuera de rango (Movilización mayor al 100%)

Como es sabido algunos de los parámetros biogeoquímicos que influyen en la forma química en que se encontrará el metal contaminante son: concentración y tipo de metal, potencial rédox, fuerza iónica, pH, formación de complejos con ligandos y reacciones biológicas.<sup>38</sup>

Partiendo de estas premisas, los resultados mostrados en la Tabla 11 indican que al aplicar el CO el efecto fue un aumento drástico en la solubilidad de Pb y Zn en el suelo, esto podría deberse a la composición del CO utilizado que pudo haber disminuido el pH del suelo por la presencia de ácidos orgánicos

característicos de la naranja,<sup>39</sup> entre estos ácidos se encuentra el ácido cítrico el cual se ha demostrado favorece la solubilidad de estos metales.<sup>20</sup>

Al aplicar los tratamientos de LD, HS, CNZ y CMP la variabilidad de los resultados fue alta, en algunos casos como el LD dicha variabilidad probablemente se deba a su origen ya que puede contener restos de tinta u otras sustancias que podrían estar aportando metales o compuestos que los solubilicen y aumenten su concentración biodisponible en el suelo. Esto concuerda con reportes en donde algunos subproductos y desechos (e.g. lodos y estiércol) utilizados para la estabilización de metales pueden contener cantidades suficientes para contribuir a los niveles de contaminación ya presentes en el sitio. Para disminuir este efecto podrían buscarse alternativas de enmiendas lo menos procesadas posible, en caso de que sean residuos es importante conocer de qué proceso proviene y realizar una caracterización previa a su uso.

Otro factor importante que puede contribuir a la variabilidad de los resultados es el mismo suelo, ya que como un material bastante heterogéneo, su composición varia de un sitio a otro inclusive dentro de un mismo predio.<sup>23</sup>

La mayoría de los tratamientos fueron efectivos para la inmovilización del Zn, observándose el mayor PI al aplicar CA al 5%. Se ha reportado que la aplicación de CA aumenta el pH del suelo favoreciendo las reacciones de precipitación de Zn en forma de hidróxidos,<sup>36</sup> también puede provocar un aumento en la concentración de carbono orgánico disuelto.<sup>40</sup>

Para el caso del Pb, los tratamientos que mostraron efectividad fueron AS, CA y CNZ, sin embargo, de éste último se necesitan concentraciones del 10% y el porcentaje de inmovilización que se alcanza es menor que los dos primeros (Tabla 12). Se seleccionaron para pruebas posteriores las enmiendas AS y CA.

Para validar los datos se repitió el experimento anterior para CA y AS con un mayor número de réplicas y los resultados se muestran en la siguiente Tabla:

Tabla 13. Porcentaje de Inmovilización (PI) para los tratamientos de CA y AS, respecto a un control.

		1%	5%	10%
Pl Pb				
	CA	2.8	32.4	28.8
	AS	14	9.3	35.7 <sup>*</sup>
PI Zn				
	CA	17.7	33.2 <sup>*</sup>	47.8 <sup>*</sup>
	AS	17.1	27.1 <sup>*</sup>	56.8 <sup>*</sup>

Resultados promedio (n=3, α=0.05), \*son significativamente diferentes al control

En los resultados que se muestran en la Tabla 13 se observa una discrepancia respecto a los obtenidos con anterioridad (Tabla 12). El objetivo que se persigue al repetir el experimento es hacer más precisos los datos conseguidos disminuyendo el margen de error.

El único tratamiento que tuvo un PI significativo (p<0.05) para Pb fue AS al 10%, mientras que CA no mostró resultados significativos (p>0.05). En el caso del Zn ambos tratamientos a partir de una concentración del 5% mostraron un PI significativo (p<0.05).

El mecanismo de acción mediante el cual podría actuar el AS podría ser mediante la formación de complejos orgánicos insolubles con los metales<sup>41</sup> y/o aportando una superficie donde los metales pueden ser adsorbidos mediante uniones físicas o químicas.<sup>42</sup> Se sabe que los principales componentes de la pared celular de las plantas (celulosa, hemicelulosa y lignina) poseen potenciales sitios de unión como carbohidratos, aminas, hidroxilos entre otros. Dichos grupos funcionales pueden tomar parte en los procesos de intercambio, complejación y/o adsorción con los iones metálicos.<sup>43</sup>

La CA aumenta el valor de pH, lo cual provoca la precipitación de los metales en forma de óxidos o carbonatos y aumenta también la CIC.<sup>7</sup>

La precipitación de metales en forma de óxidos, hidróxidos y carbonatos está directamente relacionada con el valor de pH del suelo,<sup>44</sup> debido a este fenómeno, en la Tabla 14 se muestran los valores de pH de la solución de suelo obtenidos después de la aplicación de los diferentes tratamientos.

Tabla 14. pH de la solución de suelo para los tratamientos de cal, aserrín y el control.

pH Solución de Suelo							
CONTROL	$7.8 \pm 0.01$						
	1% 5% 10%						
CA	10.8 ± 0.01	$12.8 \pm 0.01$	$12.9 \pm 0.01$				
AS	$7.8 \pm 0.01$	$7.8 \pm 0.01$	$7.6 \pm 0.01$				

Resultados promedio de n=3, ± EE

Como era de esperarse el valor de pH no resultó afectado al aplicar AS. Efecto contrario se observó conforme se incrementó la concentración de CA (Tabla 14). Al aplicar los tratamientos de 5% y 10% el pH se mantuvo con poca variación, por lo tanto, bajo las presentes condiciones experimentales probablemente no es necesaria la aplicación de cantidades superiores al 5% de CA.

Al aplicar 1% de CA el PI no fue significativo (Tabla 13, p>0.05) para ninguno de los metales analizados, sin embargo, cuando la concentración aumenta y se alcanza un pH de 12.8 el PI de Zn es significativamente (p<0.05) diferente al control.

Se analizó el PI de Pb y Zn y se midió el pH a 3 concentraciones intermedias entre 1% y 5% con el propósito de alcanzar la mayor eficacia con una menor concentración de CA (Tabla 15).

Tabla 15. Porcentaje de Inmovilización (PI) para tratamientos de cal y pH de la solución de suelo.

	2%	3%	4%
PI Zn	68.6 <sup>*</sup>	61.8 <sup>*</sup>	57.1 <sup>*</sup>
Pl Pb	25.6	25.4	33.2
pH Solución de Suelo	12.7	12.1	12.8

Resultados promedio (n=3, α=0.05), \*son significativamente diferentes al control

Un pH superior a 12 se alcanzó desde que se aplicó el tratamiento al 2% y como era de esperarse en todos los casos se observó un PI de Zn significativo (p<0.05), por el contrario en el caso del PI de Pb no se obtuvieron resultados significativos (p>0.05). Basados en los resultados de esta prueba, se determinó que 2% de CA es la concentración mínima a la que se alcanza el pH óptimo para que en el suelo de estudio se lleven a cabo las reacciones que permiten disminuir la concentración del Zn biodisponible.

Hasta este punto, las enmiendas que presentan la mayor inmovilización de Pb y Zn de forma individual son AS al 10% y CA al 2%, para disminuir estas concentraciones se procedió a probar diferentes mezclas de enmiendas.

#### 3.3.2 Mezcla de Enmiendas

Se cuantificaron las concentraciones de Pb (Tabla 16) y Zn (Tabla 17) biodisponibles en las mezclas descritas en la sección 2.3.2.

Tabla 16. Resultados del PI de Zn al aplicar diferentes mezclas de enmiendas.

		AS (%)							
		2	2.5		5	7	7.5	1	0
	0.75	M1	22.4 <sup>b</sup>	M4	23.3 <sup>b</sup>	M7	36.8 <sup>a</sup>	M10	42.4 <sup>a</sup>
CA (%)	1.5	M2	36.4 <sup>a</sup>	M5	25.6 <sup>b</sup>	M8	47.2 <sup>a</sup>	M11	31.9 <sup>a</sup>
	2	М3	53.1ª	М6	38.7 <sup>a</sup>	М9	55.8 <sup>a</sup>	M12	48.4 <sup>a</sup>

Resultados promedio (n=3, α=0.05), <sup>a, b</sup> son significativamente diferentes al control. Letras iguales indican que no existe diferencia significativa entre tratamientos

Todas las mezclas probadas disminuyeron la concentración de Zn biodisponible, esto concuerda con reportes que utilizan mezclas de enmiendas han encontrado que el proceso de estabilización de metales en el suelo es mejor que al aplicarse individualmente, <sup>25, 26, 45</sup> sobretodo al combinar enmiendas orgánicas con inorgánicas. <sup>45</sup>

El uso de AS como material adsorbente de metales ha sido estudiado principalmente en aguas. 46, 47 Recientes investigaciones han encontrado que el pH de la solución acuosa es un parámetro importante para los procesos de adsorción, por ejemplo para el Zn(II), utilizando AS como adsorbente y variando el pH de la solución de 2 a 12, la adsorción comienza a un pH 6, alcanzando su valor máximo y manteniéndose constante al llegar a un pH 10.46

Otra alternativa que ha sido estudiada para incrementar la capacidad de adsorción del AS consiste en darle un pre tratamiento con NaOH, en estudios realizados se ha encontrado que la capacidad adsorbente del AS en solución acuosa mejoró conforme aumentó la concentración inicial del álcali en el pre tratamiento, como resultado del incremento en el número de sitios activos o a una mayor accesibilidad hacia ellos.<sup>47</sup> Es posible que mecanismos similares actúen al aplicar CA al suelo que al elevar el pH aumenta el potencial de adsorción del AS, disminuyendo así considerablemente la concentración de AS necesaria para alcanzar el nivel máximo de Inmovilización del Zn.

Los resultados de la Tabla 17 muestran que se logró optimizar la estabilización del Pb al aplicar CA a 2% independiente de la concentración de AS (p<0.05). Al

igual que en el caso del Zn, esto podría explicarse por la sinergia que se produce al aplicar las enmiendas en conjunto.

En un estudio realizado en solución acuosa, utilizando AS como material adsorbente y variando el pH de 3 a 7 se encontró que la adsorción mejoró conforme aumentó el pH alcanzando el mayor porcentaje a pH 7,<sup>48</sup> en este caso no se probaron valores de pH superiores debido a que el Pb precipita en forma de hidróxido,<sup>49</sup> lo más probable es que en nuestro sistema se presenten ambos fenómenos lo que favorece la inmovilización del Pb.

La mezcla 3 fue la que logró inmovilizar significativamente (p<0.05) con la menor concentración de enmiendas y por lo tanto fue la que se seleccionó para aplicarse en la prueba piloto.

Tabla 17. Resultados del PI de Pb al aplicar diferentes mezclas de enmiendas.

			AS (%)						
		2	2.5		5	-	7.5	1	10
	0.75	M1	3.2	M4	0.7	M7	16.3	M10	13.6
CA (%)	1.5	M2	-4.7	М5	-1.6	M8	15.1	M11	17.9
	2.0	М3	39.4ª	М6	36.1 <sup>a</sup>	М9	34.6 <sup>a</sup>	M12	31.5 <sup>a</sup>

Resultados promedio (n=3, α=0.05), <sup>a</sup> son significativamente diferentes al control.

## 3.3.3 Selección de la planta

Adaptación de las plantas

Tabla 18. Resultados de la prueba de Adaptación de *Cynodon dactylon* a crecimiento en suelo agrícola y contaminado.

		Biomasa	a (g·m <sup>-2</sup> )
	Tipo de suelo	Fresca	Seca
Cynodon dactylon D	Daniela		
	Agrícola	92.1 ± 1.8 <sup>a</sup>	$12.6 \pm 0.5^{a}$
	Contaminado	92.7 ± 1.7 <sup>a</sup>	$11.4 \pm 0.4^{a}$
Cynodon dactylon S	Sahara		
	Agrícola	$60.4 \pm 4.4^{b}$	$8.3 \pm 0.8^{b}$
	Contaminado	64.4 ± 5.3 <sup>b</sup>	$9.0 \pm 1.3^{b}$

Resultados promedio (n=3 ±EE, α=0.05). Letras iguales significa que no existe diferencia significativa entre columnas.

Ambos pastos presentaron una buena adaptación, ya que no existe diferencia significativa (p>0.05) en la producción de biomasa entre los 2 tipos de suelo. El pasto *Cynodon dactylon* var. Daniela obtuvo una producción de biomasa fresca y seca significativamente mayor (p<0.05) que el pasto *Cynodon dactylon* var. Sahara bajo las condiciones establecidas, por lo que se seleccionó el pasto *C. dactylon* var. Daniela ya que tiene una mayor productividad lo que ayudaría a una más pronta revegetación del sitio, esto es importante ya que a mayor cobertura vegetal menor es la erosión del suelo y por ende menor el contacto que el humano tenga con el contaminante.<sup>17</sup>

## Determinación del área superficial de la rizósfera

La Tabla 19 muestra los resultados del análisis morfológico de raíz. Se puede observar que ambos pastos tuvieron una producción de biomasa igual y no presentaron diferencias significativas en ninguno de los parámetros analizados (p>0.05), por lo que esta prueba no resultó determinante en la selección de la especie. Las raíces de las plantas ayudan en la estabilización física, previenen la percolación y la erosión del suelo. <sup>15</sup> Además se ha encontrado que se puede contribuir a la inmovilización de metales mediante la inducción de la formación de compuestos insolubles dentro de los tejidos de plantas o en la superficie de la raíz, de ahí la importancia de determinar estos parámetros. <sup>50</sup> Debido a que el objetivo principal de la fitoestabilización es disminuir la movilidad del contaminante, la selección de una planta con amplia área superficial de raíz es de suma importancia para proveer al suelo de una superficie en la cual el metal pueda precipitar (rizósfera). <sup>51</sup>

Tabla 19. Resultados de biomasa fresca y morfología de la raíz de dos variedades de pasto cultivados en hidroponía por 4 semanas.

	Biomasa fresca (mg)	Área Superficial de Ia Raíz (cm²)	Perímetro Total (cm)	Longitud Total (cm)
Cynodon dactylon Sahara	72 ± 7 <sup>a</sup>	1.88 ± 0.22 <sup>a</sup>	198.6 ± 23.3 <sup>a</sup>	98.2 ± 11.6 <sup>a</sup>

Cynodon dactylon Daniela	57 ± 4 <sup>a</sup>	1.97 ± 0.12 <sup>a</sup>	223.9 ± 8.6 <sup>a</sup>	111.0 ± 4.3 <sup>a</sup>
--------------------------------	---------------------	--------------------------	--------------------------	--------------------------

Resultados promedio (n=5 ± ΕΕ, α=0.05) Letras iguales significa que no existe diferencia significativa entre columnas.

Prueba de Tolerancia a Metales en Hidroponía

Tabla 20. Especiación de una solución 1X y una solución 0.2X al agregar 5mg.L<sup>-1</sup> de Pb y Zn.

	mol.L <sup>-1</sup> (% relativo)						
	Pb <sup>2+</sup>	PbNO <sub>3</sub> <sup>†</sup>	PbOH⁺	PbHPO₄	PbSO <sub>4</sub>		
1X	7.1 x 10 <sup>-6</sup> (30)	6.9 x 10 <sup>-7</sup> (3)	1.2 x 10 <sup>-5</sup> (53)	1.2 x 10 <sup>-6</sup> (5.1)	1.5 x 10 <sup>-6</sup> (6.5)		
0.2X	1.3 x 10 <sup>-5</sup> (55.4)	<1%	8.3 x 10 <sup>-6</sup> (34.6)	9 x 10 <sup>-7</sup> (3.8)	1.2 x 10 <sup>-6</sup> (4.8)		
	mol.L <sup>-1</sup> (% relativo)						
	Zn <sup>2+</sup>	ZnHPO₄	ZnOH⁺	ZnSO <sub>4</sub>	ZnNO <sub>3</sub> <sup>+</sup>		
1X	5 x 10 <sup>-5</sup> (67)	1.3 x 10 <sup>-5</sup> (17)	3.3 x 10 <sup>-6</sup> (4.3)	4.5 x 10 <sup>-5</sup> (5.9)	7.8 x 10 <sup>-8</sup> (1)		
0.2X	6.4 x 10 <sup>-5</sup> (84)	7.2 x 10 <sup>-6</sup> (9.4)	1.6 x 10 <sup>-6</sup> (2.1)	2.4 x 10 <sup>-6</sup> (3.2)	<1%		

Solo se incluyeron las especies más abundantes en solución, se ignoraron especies que representaran menos del 1% del total.

En la Tabla 20 se muestra la concentración de los complejos más abundantes en la solución nutritiva 1X y 0.2X añadiendo 5 ppm de Pb y Zn, modelados por el programa Visual MINTEQ y su porcentaje relativo a la suma de todas las especies formadas por el metal.

Estos resultados demuestran que la disminución de la concentración de la solución nutritiva de 1X a 0.2X, ayuda a que el mayor porcentaje de Pb y Zn

corresponda a su forma iónica, por lo tanto se encuentre biodisponible y pueda ser captado por las raíces de la planta.<sup>52,</sup>

En la Tabla 21 se presentan los resultados obtenidos de la prueba de toxicidad.

Tabla 21. Resultados de la prueba de Toxicidad por Pb y Zn (5 mg.L<sup>-1</sup>) en cultivo hidropónico utilizando solución nutritiva 0.2X y un control sin metales.

	Biomasa fresca (mg)	Área Superficial de la Raíz (cm²)	Perímetro Total (cm)	Longitud Total (cm)		
C. dactylon Sahara						
Tratamiento	$35 \pm 6^{a}$	0.8 ± 0.1 <sup>b</sup>	130 ± 18 <sup>b</sup>	66 ± 9 <sup>b</sup>		
Control	31 ± 7 <sup>a</sup>	1.6 ± 0.1 <sup>a</sup>	304 ± 19 <sup>a</sup>	152 ± 19 <sup>a</sup>		
C. dactylon Daniela						
Tratamiento	$43 \pm 7^{a}$	1.1 ± 0.1 <sup>ab</sup>	198 ± 23 <sup>ab</sup>	99 ± 12 <sup>ab</sup>		
Control	35 ± 7 <sup>a</sup>	1.3 ± 0.1 <sup>a</sup>	183 ± 35 <sup>ab</sup>	91 ± 18 <sup>ab</sup>		

n=5 α=0.05 ±EE, letras iguales en la misma columna indican que no existe diferencia significativa

No se observó una diferencia significativa (p>0.05) en cuanto a la producción de biomasa fresca entre las 2 variedades de pasto probadas (Tabla 20). Sin embargo *C. dactylon* var. Sahara, a pesar de que en el tratamiento control presentó la mejor producción de raíces, disminuyó marcadamente en presencia de Pb y Zn. Por otro lado, *C. dactylon* var. Daniela fue capaz de mantener su producción de raíces normal en ambos tratamientos (p>0.05), lo que indica que

esta especie es más tolerante a la contaminación por Pb y Zn y por lo tanto será la que se seleccionó para la revegetación del sitio de estudio.

#### 3.3.4 Muestreo Preliminar de PST

Como se puede observar en la tabla 22, la concentración de PST en ambos muestreos superó el valor permisible en el aire ambiente, esto puede deberse a la acción de la erosión eólica del suelo causada por la ausencia de cobertura vegetal. En cuanto a la concentración de Plomo, solo durante el primer muestreo rebasó el límite máximo permisible de acuerdo a la normatividad mexicana y la EPA, sin embargo en ambas ocasiones sobrepasó el límite establecido por la OMS. Es importante considerar que estos límites están establecidos en base a una media anual, por tanto no es posible concluir si se cumple con la normatividad.

Tabla 22. Concentración de PST y concentración de Pb y Zn en ellas en dos muestreos realizados en el área de estudio sin tratamiento y comparación con algunas referencias nacionales e internacionales.

	PST (µg.m <sup>-3</sup> )	Pb (µg.m <sup>-3</sup> )	Zn (μg.m <sup>-3</sup> )
Muestreo 1 28/05/2010	1237	1.6	8.6
Muestreo 2			
29/05/2010	725	1.1	5.6
US EPAª	260	1.5	ND
NOM-025 <sup>b</sup>	260	ND	ND
NOM-026 <sup>c</sup>	ND	1.5	ND

$OMS^d$	80	0.5	ND
01110	00	0.0	

ND No disponible, a Estándares de calidad del aire (Agencia de Protección al Ambiente de los Estados Unidos, 2002)<sup>34</sup>, b Norma Oficial Mexicana 025-SSA1-1993<sup>54</sup>, c Norma Oficial Mexicana 026-SSA1-1993<sup>55</sup>, d Organización Mundial de la Salud.<sup>56</sup>

## 3.4 Prueba Piloto de Fitoestabilización

En la Tabla 23 se muestran algunos resultados del análisis de la solución de suelo obtenidos en la primer etapa de la prueba en campo (descrita en la sección 2.4), donde se aplicó en uno de los cuadrantes la mezcla de enmiendas seleccionada en la sección 3.3.2 (Mezcla 3: 2% CA + 2.5% AS) y el cuadrante control permaneció sin tratamiento.

Tabla 23. Resultados de la primer etapa de la prueba de fitoestabilización (sin vegetación) en campo, después de aplicar 2% de CA y 2.5% de AS, comparada con el control sin tratamiento.

Parámetro Analizado (unidad)	Cuadrante Control	Cuadrante con Enmienda
Zn biodisponible (mg.L <sup>-1</sup> )	1.06 ± 0.08	$0.42 \pm 0.06$
Pb biodisponible (mg.L <sup>-1</sup> )	1.02 ±0.08	$0.50 \pm 0.04$
рН	$7.7 \pm 0.01$	11.2 ± 0.02
Conductividad (mS.cm <sup>-1</sup> )	$2.3 \pm 0.05$	$6.6 \pm 0.06$

n=4 ± Error Estándar

Al aplicar las enmiendas en campo se observa que no alcanzó el mismo pH que en las pruebas de laboratorio. Investigaciones anteriores también han

encontrado discrepancias entre resultados de laboratorio y de campo, lo que se atribuye a la alta heterogeneidad del suelo,<sup>57</sup> así como al tiempo transcurrido entre el muestreo y la prueba en campo, ya que la química del suelo está relacionada con los cambios estacionales, sobre todo con la humedad ya que ésta afecta la acumulación o lavado de sales.<sup>23</sup>

En la Tabla 23 se observa un marcado aumento en la conductividad de la solución de suelo, esto puede ser debido principalmente a la disolución de la CA en iones Ca<sup>2+</sup>, CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> and HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>.<sup>24</sup>

Se ha demostrado que la concentración de PST y la concentración de metales en las mismas pueden verse afectadas por diferentes factores como la velocidad y dirección del viento, temperatura, emisiones de fuentes fijas y móviles, quema de biomasa y/o aceites, polvos suspendidos y provenientes del suelo. 58,59,60,61 Además, estudios previos han encontrado las concentraciones tanto de PST como de Pb y Zn presentan variaciones significativas en las diferentes estaciones del año,58 encontrando una correlación entre la temperatura y la concentración de contaminantes, donde se observa que la concentración total de PST aumenta con altas temperaturas, mientras las bajas temperaturas favorecen la concentración de Pb y Zn.<sup>59</sup>

Los equipos fueron colocados a una corta distancia pero aislados uno del otro con una maya, para propiciar que factores como velocidad del viento, emisiones industriales, tráfico, temperatura, entre otros, afectaran igual a ambos cuadrantes, además todos los muestreos se realizaron en días sin precipitación,

de este modo se asumió que cualquier diferencia entre los resultados de un mismo día es debida a las partículas provenientes de los polvos suspendidos y provenientes del suelo. Estadísticamente no se presentó diferencia significativa entre los tratamientos (p>0.05), sin embargo, en la tabla 24 se observa una tendencia marcada donde el cuadrante control presenta una mayor concentración tanto de PST como de Pb y Zn, esto puede deberse a que al aplicar la cal se propicia la estabilización química del suelo, ya que al reaccionar la cal con las arcillas del suelo se forma una especie de mezcla cementante, 62 esta transformación química lo convierte en un material más friable y fácil de compactar por lo que éste fenómeno aunado a una mayor retención de humedad debido a la aplicación del aserrín puede ser lo que provoque una disminución en la concentración de contaminantes en el ambiente después de aplicar la enmienda.

Tabla 24. Resultados de la concentración de PST, Pb y Zn durante 7 días de muestreo en el aire ambiente de cada cuadrante (CONTROL: sin enmienda, TRATAMIENTO: con enmienda) de la planta piloto (sección 2.4). Primer muestreo.

	PST	Pb	Zn		PST	Pb	Zn
	(µg.m <sup>-3</sup> )	(µg.m <sup>-3</sup> )	(µg.m <sup>-3</sup> )		(µg.m <sup>-3</sup> )	(µg.m <sup>-3</sup> )	(µg.m <sup>-3</sup> )
CONTROL				TRATAMIENTO			
19/08/2010	991	0.6	13.3	19/08/2010	799	0.5	10.4
21/08/2010	1733	1.8	15.9	21/08/2010	1553	1.4	12.6
22/08/2010	1311	2.2	13.4	22/08/2010	1331	1.8	13.6
13/10/2010	1877	7.5	10.9	13/10/2010	1320	3.3	8.7
14/10/2010	1323	1.5	6.2	14/10/2010	1232	1.0	5.0

15/10/2010	1241	2.0	6.8	15/10/2010	1229	1.1	5.3	
18/10/2010	1299	3.8	6.1	18/10/2010	1016	2.1	5.2	
Promedio	1396±117	2.8±0.8	10.4±1.5	Promedio 1	211±93	1.6±0.3	8.7±1.4	

n=7, ±EE, α=0.05 no se observó diferencia significativa entre columnas iguales

En la tabla 25 se observa que la concentración de PST no disminuyó significativamente en ningún cuadrante respecto al promedio obtenido en la primera fase del estudio (tabla 24).

Tabla 25. Resultados de la concentración de PST, Pb y Zn en el aire ambiente de cada cuadrante (CONTROL: sin enmienda, TRATAMIENTO: con enmienda) después de aplicar el pasto. Segundo muestreo.

	PST	Pb	Zn		PST	Pb	Zn
	(µg.m <sup>-3</sup> )	(µg.m <sup>-3</sup> )	(µg.m <sup>-3</sup> )		(µg.m <sup>-3</sup> )	(µg.m <sup>-3</sup> )	(µg.m <sup>-3</sup> )
CONTROL				TRATAMIENTO			
08/02/2011	1492	1.3	11.8	08/02/2011	1366	0.9	10.0
09/02/2011	1918	1.0	11.5	09/02/2011	1593	0.5	8.2
10/02/2011	1423	1.7	13.4	10/02/2011	1240	1.2	11.0
11/02/2011	1358	0.7	7.5	11/02/2011	1025	0.5	4.9
14/02/2011	1267	2.19	11.9	14/02/2011	1279	1.3	9.6
15/02/2011	1525	1.5	12.6	15/02/2011	1107	0.7	6.7
17/02/2011	1361	1.3	7.6	17/02/2011	1172	1.0	3.5
Promedio	1477±82	1.4±0.2	10.9±0.9	Promedio	1254±72	0.9±0.2*	7.7±1.0*

n=7,  $\pm EE$ ,  $\alpha=0.05$  \*significa diferencia significativa entre columnas iguales

En la tabla 26 se muestra un resumen de las condiciones climatológicas durante los muestreos, durante el segundo muestreo se observaron temperaturas y valores de humedad relativa inferiores que en el primer muestreo, el viento prevaleciente fue proveniente del Nornoreste y la velocidad fue muy variable en ambos casos.

Tabla 26. Algunas condiciones climatológicas durante los días del muestreo (valores promedio en 24hrs.)

	Temperatura	Humedad	Vel. Viento	Viento
	(°C)	(%)	(Km.hr <sup>-1</sup> )	prevaleciente
Primer mues	streo			
19/08/2010	28.4	63.3	1.23	NNE
21/08/2010	28.0	63.3	0.95	NNE
22/08/2010	28.1	61.6	0.45	NNE
13/10/2010	24.1	62.1	4.4	NNE
14/10/2010	23.2	50.6	3.7	NNE
15/10/2010	23.1	43.9	3.9	NE
18/10/2010	22.4	63.2	4.3	NNE
Segundo mu	uestreo			
08/02/2011	8.7	25.6	3.8	NNE
09/02/2011	7.2	27.8	4.4	NNE
10/02/2011	6.9	24.3	5.7	NNE
11/02/2011	8.2	26.4	4.5	NNE
14/02/2011	20.3	38.0	4.5	NNE
15/02/2011	20.4	54.8	8.0	NNE
17/02/2011	21.8	61.8	0.7	NNE

ND: No Disponible, NE: Noreste, NNE: Nornoreste, datos obtenidos de la estación Meteorológica (Marca Davis, Vantage Pro2) localizada en la azotea del edificio redondo de la Facultad de Ciencias Químicas.

Como se sabe las principales fuentes que contribuyen en la concentración de PST son: la velocidad y dirección del viento, temperatura, emisiones de fuentes

fijas y móviles, quema de biomasa y/o aceites, polvos suspendidos y provenientes del suelo. 58,59,60,61 De acuerdo a la información de la tabla 26, la temperatura en el segundo muestreo fue menor, por lo tanto si fuera un factor determinante se observaría una concentración menor de PST, sin embargo permaneció igual, en cuanto a la velocidad y dirección del viento fueron similares en ambos muestreos. Como el sitio de muestreo se encuentra en una zona altamente industrializada, factores como las emisiones fijas y móviles podrían ser las que estén ocasionando concentraciones tan altas de PST.

La concentración de Pb y Zn resultaron significativamente (P>0.05) menores en el cuadrante tratado que en control (tabla 25) y que en ambos cuadrantes de la primer etapa (tabla 24), lo que indica que aunque la erosión eólica aparentemente no influyó significativamente en la concentración de PST totales, si tuvo un efecto significativo (P>0.05) en la presencia de contaminantes en estas.

La cobertura vegetal favoreció la inmovilización del Zn y Pb del suelo, ya que estos metales pueden encontrarse formando de precipitados en la pared celular de las raíces de las plantas<sup>64</sup> y/o en la superficie del aserrín.<sup>47</sup> Los datos indican que el uso conjunto de la fitoestabilización y aplicación de enmiendas es una mejor opción que utilizar solamente una técnica, especialmente si lo que se busca es minimizar la dispersión de los contaminantes al ambiente.

En la fitoestabilización, una buena adaptación y crecimiento de las plantas en el sitio a tratar son puntos clave para el adecuado manejo y estabilización de los contaminantes. 17 va que éstos se acumulan v/o precipitan en sus raíces. 64 En la tabla 27 se muestran algunas características de las plantas cultivadas en cada cuadrante de la prueba piloto. El pasto Cynodon dactylon es un forraje muy resistente y que se adapta a temperaturas muy elevadas y a una gran variedad de suelos, 65 se ha observado que acumula metales como Pb y Zn cuando crece en sitios contaminados. 66 El análisis de las plantas en la prueba piloto demuestra que la producción de biomasa tanto fresca como seca del pasto fue significativamente superior en el cuadrante con enmiendas y la concentración de Pb y Zn fue significativamente menor. Basados en estos parámetros se puede inferir que la aplicación de enmiendas al suelo antes de la revegetación fue un paso decisivo en la adaptación de la planta al sitio de estudio. Las plantas muestran diferente respuesta fisiológica, según las características del suelo donde son cultivadas y la mayoría son sensibles a bajas concentraciones de metales<sup>67</sup>, es por esto que el pasto C. dactylon Daniela mostró un crecimiento 2 veces mayor al cultivarse en un suelo estabilizado, lo que le confiere ventajas para su uso en programas de fitoestabilización porque como se sabe entre mayor sea la densidad de siembra de una planta mayor será su capacidad de minimizar la erosión por agua y viento, previniendo así la movilización de contaminantes.<sup>68</sup>

Tabla 27. Producción de biomasa y concentración de Pb y Zn en las plantas de la prueba piloto.

	CONTROL	TRATAMIENTO
Biomasa Fresca (g.m <sup>-2</sup> )	2131 ± 445	4237 ± 461*
Biomasa Seca (g.m <sup>-2</sup> )	753 ± 141	1437 ± 159*
Humedad (%)	$64.0 \pm 1.7$	$66.0 \pm 1.0$
Conc. Pb (mg.Kg <sup>-1</sup> ) <sup>1</sup>	$27.6 \pm 2.3^*$	17.1 ± 1.8
Conc. Zn (mg.Kg <sup>-1</sup> ) <sup>1</sup>	131.3 ± 17.0*	80.1 ± 5.4

<sup>1</sup> base seca, \*en la misma fila indica que existe diferencia significativa, (n=10,  $\pm$ EE,  $\alpha$ =0.05)

El aprovechamiento de sitios contaminados abandonados es generalmente limitado por la presencia de varios contaminantes, este tipo de suelos pueden adquirir un valor ambiental, sobre todo al brindar la oportunidad de un adecuado manejo del riesgo de la dispersión de contaminantes. Al igual que en estudios de campo previos, el presente estudio apoya el hecho de que al aplicar enmiendas previo a la siembra favorece a una mayor producción de biomasa, asegurando una mejor cobertura vegetal y por ende un mayor impacto disminuyendo el transporte de contaminantes al ambiente. 69

## **CONCLUSIONES.**

- El sitio C se seleccionó como área de estudio por presentar concentraciones de Pb y Zn que exceden los límites máximos permisibles (300 mg.Kg<sup>-1</sup> de Zn y 400mg.Kg<sup>-1</sup>de Pb).
- La prueba de tolerancia de metales realizada en solución nutritiva indicó que *Cynodon dactylon* var. Daniela es tolerante a la contaminación por Pb y Zn, por lo que se seleccionó como especie vegetal para la prueba en campo.
- De las 7 enmiendas probadas se encontró que la concentración mínima que alcanzó el mayor PI de Zn fue 2% de CA, mientras para el AS concentraciones de 5 y 10% son necesarias para inmovilizar Zn y Pb.
- Se observó que la CA favoreció al AS ya que al aplicarse en conjunto disminuyó de 10% a 2.5% la concentración de AS necesaria para inmovilizar Pb y Zn.
- La aplicación de enmiendas al suelo de estudio disminuyó la biodisponibilidad de Pb y Zn en un 50% y 60% respectivamente en el suelo (fase 1) y favoreció el desarrollo y eficiencia de de *Cynodon* dactylon var. Daniela en la prueba de fitoestabilización ya que aumentó al doble su producción de biomasa (fase 2).
- La concentración total de PST en el aire ambiente del área de estudio no resultó afectada significativamente (p<0.05) por la aplicación de enmiendas ni por la revegetación, posiblemente por influencia de los factores meteorológicos entre los muestreos y/o al aporte de PST

transportado de otras zonas. Sin embargo, la concentración de Pb y Zn en el aire ambiente del área de estudio disminuyó significativamente respecto al control, después de aplicar la cobertura vegetal (fase 2).

La aplicación de mezclas de enmiendas como cal (2%) y aserrín (2.5%)
 en los primeros 15cm del suelo, en conjunto con una cobertura vegetal de alta densidad como el *C. dactylon* var. Daniela puede representar una opción económica y factible en sitios contaminados cuya principal necesidad es el control de la dispersión de contaminantes al ambiente.

## **BIBLIOGRAFIA**

- Galiulin R., Galilina R. A. (2008). Removing Heavy Metals from Soil with Plants. Vestnik Rossiiskoi Akademii Nauk. 78 (3): 247-249.
- Valdés F., Cabrera V. (1999). La Contaminación por Metales Pesados en Torreon, Coahuila, México [on line]. México. Texas Center for Policy Studies. Disponible en <www.texascenter.org/publications/torreon.pdf> (10/05/10)
- Kabata-Pendias A., Pendias H. (2001). Trace Elements in Soils and Plants. (3rd edn) Boca Raton, London, New York, Washington DC: CRC Press LLC pp 413.
- Volke T., Velasco J. A. (2002). Tecnologías de Remediación para Suelos Contaminados. México: INE-SEMARNAT, pp 64.
- Volke T., Velasco J. A., De la Rosa D. (2005). Suelos Contaminados por Metales y Metaloides: Muestreo y alternativas para su remediación. México: INE-SEMARNAT, pp141.
- Carabias J., De la Fuente J. (2000). Programa de Administración de la Calidad del Aire del Área Metropolitana de Monterrey. México: INE-SEMARNAT, pp 143.
- Mench M., Vangronsveld J., Lepp N., Bleeker P., Ruttens A., Geebelen W., (2006). Phytostabilisation of Metal-contaminated Sites. Phytoremediation of Metal-Contaminated Soils, Morel, J.Ll, Echevarria G., Goncharova N. (Eds.), NATO ASI 18 -30 August (2002), Trest, Czech Republic, Chapter 5, pp. 109-190, ISBN: 1-4020-4687-1.

- Tabatabai M.A., Sparks D.L. (2005). Chemical Processes in Soils. USA.
   Soil Science Society of America, Inc. ISBN: 0-89118-843-6.
- 9. Alloway B. J., Ayres D.C. (1998). Chemical Principles of Environmental Pollution. *Water, Air & Soil Pollution*. 102:216-218.
- 10. Environmental Protection Agency (2009). Particulate Matter [on line].
  United States. Environmental Protection Agency. Disponible en:
  <a href="http://epa.gov/oar/particlepollution/">http://epa.gov/oar/particlepollution/</a>> (07/05/09)
- 11. Moreno M., (2003). Toxicologia Ambiental: Evaluación de riesgo para la salud humana. McGraw Hill. Madrid.
- 12. Yanshan C., Yiting D., Haifeng L., Qingren W. (2004). Effect of elemental sulphure on solubility of soil heavy metals and their uptake by maize. *Environmental International*. 30: 323-328.
- Querol X., (2008). Calidad del aire, partículas en suspensión y metales.
   Revista Española de Salud Pública. 82: 447-454.
- 14. Nordberg G., (2001). Metales: propiedades químicas y toxicidad. Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo. 2: 63.2-63.51.
- 15. Carpena R.O., Bernal M.P. (2007). Claves de la fitorremediación: fitotecnologias para la remediación de suelos. Asociación Española de Ecología Terrestre. 16 (2): 1-3.
- 16. Peer W. A., Baxter I.R., Richards E., Freeman J., Murphy A. (2005).

  Phytoremediation and hyperaccumulator plants. *Topics in Current Genetic*. 14: 299-340.

- 17. Padmavathiamma P., Li L. (2009). Phytostabilisation—A Sustainable Remediation Technique for Zinc in Soils. . *Water, Air & Soil Pollution*. 9:253–260.
- 18. Davis G., Wilson C., (2008). Choosing a Soil Amendment [on line]

  Colorado State University Extension. Disponible en:

  <a href="http://www.ext.colostate.edu/Pubs/Garden/07235.html">http://www.ext.colostate.edu/Pubs/Garden/07235.html</a> (20/04/09)
- 19. Valadez A., (2006). NL: Crean residencial para ricos sobre basurero de residuos tóxicos [on line]. México. La Jornada. Disponible en: <a href="http://www.jornada.unam.mx/2006/08/04/index.php?section=estados&article=035n1est">http://www.jornada.unam.mx/2006/08/04/index.php?section=estados&article=035n1est</a> (16/04/09)
- 20. Cárdenas Lara I. (2010). Efecto de la Aplicación de Ácidos Orgánicos de Bajo Peso Molecular en la Biodisponibilidad de Pb y Zn en un Sistema. Tesis M.C. con orientación en Procesos Sustentables. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Químicas. Pp119.
- 21. SEMARNAT. (31/12/2002) Diario Oficial de la Federación. NOM-021-SEMARNAT-2000 que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis.[on line]

  Disponible en: <
  http://www.semarnat.gob.mx/leyesynormas/Normas%20Oficiales%20Mex icanas%20vigentes/NOM-021-RECNAT-2000.pdf>(13/03/09)
- 22. Reetz H. (1999). Soil Sampling for High Yield Agriculture. Efficient Fertilizer Use Manual [on line]. IMC Global. Northbrook, Illinois, USA. Disponible en: <a href="http://www.paqinteractive.com/imcdemo">http://www.paqinteractive.com/imcdemo</a> (17/03/2009)

- 23. Rodríguez, H., Rodríguez, J. (2002). Métodos de Análisis de Suelos y Plantas: Criterios de Interpretación. México: Trillas-UANL. ISBN: 968-24-6596-6 pp 196.
- 24. Geebelen W., VanGronsveld J., Adriano D. C., Carleer R., Clijsters H., (2002). Amendment-induced immobilization of lead in a lead-spiked soil: Evidence from phytotoxicity studies. Water, Air & Soil Pollution, 140: 261–277.
- 25. Geebelen W., Adriano D.C., Van Der Lelie D., Mench, M., Carleer R., Clijsters H., Vangronsveld J. (2003) Selected Bioavailability Assays to Test the Efficacy of Amendment-induced Immobilization of Lead in Soils. Plant and Soil 249: 217–228.
- 26. Simon, L., (2005). Stabilization of Metals in Acidic Mine Spoil with Amendments and Red fescue (*Festuca rubra* L.) Growth. *Environmental Geochemistry and Health*, 27(4): 289-300.
- 27. Ylivainio K., Uusitalo R., Turtola E. (2008). Meat Bone Meal and Fox Manure as P Sources for Ryegrass (*Lolium multiflorum*) Grown on a Limed Soil. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. 81:267–278.
- 28. Eljamal O., Jinno K., Hosokawa T. (2008). Modeling of Solute Transport with Bioremediation Processes using Sawdust as a Matrix. *Water, Air & Soil Pollution*. 195:115–127.
- 29. Rao, C., Sauquillo, A., López, J., (2008). A Review of the Different Methods Appliedin Environmental Geochemistry For Single and

- Sequential Extraction of Trace Elements in Soils and Related Materials. Water, Air & Soil Pollution, 189:291–333.
- 30. García Campos L. (2010). Evaluación del Efecto Toxicológico por Ingesta de Cadmio en Lechugas Fertilizadas con Biosólidos e Irrigadas con Agua Salina. Tesis M.C. con orientación en Química Analítica Ambiental. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Químicas. pp 86.
- 31. López-Chuken U.J., Young S.D. (2009). Modelling sulphate-enhanced cadmium uptake by Zea mays from nutrient solution under conditions of constant free Cd<sup>2+</sup> ion activity. *Journal of Environmental Sciences*, *22* (*in press*).
- 32. Ewing R.P., Kaspar T.C. (1995). Accurate perimeter and length measurement using edge chard algorithm. *Journal of Computer Assisted Microscopy*. 7: 91-100.
- 33. Gustafsson J. P. (2006) Visual MINTEQ ver. 2.53. Department of Land and Water Resources Engineering. Stockholm.
- 34. SEMARNAT. (18/10/1993). Diario Oficial de la Federación. NOM-035.SEMARNAT-1993 que establece los métodos de medición para determinar la concentración de partículas suspendidas totales en el aire ambiente y el procedimiento para la calibración de los equipos de medición. [on line] Disponible en: < http://www.semarnat.gob.mx/leyesynormas/Normas%20Oficiales%20Mex icanas%20vigentes/NOM-021-RECNAT-2000.pdf>(13/03/09).

- 35. Rubenstein, S. (2009). Sigma Plot 11.0: Exact Graphs and Data Analysis [on line]. Canada. *Systat Software Inc.* Disponible en: <a href="http://www.sigmaplot.com/products/sigmaplot/sigmaplot-details.php">http://www.sigmaplot.com/products/sigmaplot/sigmaplot-details.php</a>>(19/02/10)
- 36. Miller M., Belnap J., Beatty S., Webb B. (2006). Effects of water additions, chemical amendments, and plants on in situ measures of nutrient bioavailability in calcareous soils of southeastern Utah, USA.

  Plant and Soil. 288:19–29
- 37. Keller C., Hammer D., Kayser A., Richner W., Brodbeck M., Sennhauser M. (2002). Root development and heavy metal phytoextraction efficiency: comparison of different plant species in the field. *Plant and Soil*. 249, 67-81.
- 38. Brady, W., Eick, M., Grossi, P., Brady, P. (2003). A Site Specific Approach for the Evaluation of Natural Attenuation at Metals-Impacted Sites. *Soil and Sediment Contamination*. 12(4):541-564.
- 39. Ersus, S., Can, M. (2007). Determination of organic acids, total phenolic content, and antioxidant capacity of sour *Citrus aurantium* fruits. *Chemistry of Natural Compounds*. 43(5): 547-585.
- 40. Hilderbrand E., Schack-Kirchner H. (2000). Initial effects of lime and rock powder application on soil solution chemistry in a dystric cambisol results of model experiments. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. 56: 69–78.

- 41. Merrington G., Alloway B. (1996). Determination of the Residual Metal Binding Characteristics of Soils Polluted by Cd and Pb. *Water, Air & Soil Pollution* 100: 49–62.
- 42. Cheng S., Hseu Z. (2001). In Situ Immobilization of Cadmium and Lead by Different Amendments in two Contaminated Soils. *Water Air & Soil Pollution*. 140: 73–84, 2002.
- 43. Memon S., Bhanger M.I., Khuhawar M. (2005). Preconcentration and separation of Cr(III) and Cr(VI) using sawdust as a sorbent. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 383: 619–624
- 44. Guo G., Zhou Q., Ma L. (2006). Availability and Assessment of Fixing Additives for the *in situ* Remediation of Heavy Metal Contaminated Soils: a Review. *Environmental Monitoring and Assessment*. 116: 513–528.
- 45. Priya V., Ouki S., Hutchings T. (2008). Remediation of Copper and Cadmium in ontaminated Soils using Compost with Inorganic Amendments. *Water, Air & Soil Pollution*, 196:355–368.
- 46. Ahmad, A., Rafatullah, M., Dannish, M. (2007). Sorption studies of Zn(II)-and Cd(II) ions from aqueous solution on treated sawdust of sissoo Wood. *Holz als Roh-und Werkstoff*. 65: 429–436.
- 47. Sciban, M., Klasnja, M., Skrbic, B. (2006). Modified hardwood sawdust as adsorbent of heavy metal ions from water. *Wood Science and Technology*. 40: 217–227.
- 48. Ali, S. (2010). Sawdust of lam tree (*Cordia africana*) as a low-cost, sustainable and easily available adsorbent for the removal of toxic metals

- like Pb(II) and Ni(II) from aqueous solution. European Journal of Wood and Wood Products
- 49. Endovitskii, A., Kalinichenko, V., Il'in, V., Ivanenko, A. (2009) Coefficients of Association and Activity of Cadmium and Lead Ions in Soil Solutions. *Eurasian Soil Science*. 42(2): 201–208.
- 50. Madejo P., Murillo J., Marañon T., Cabrera F. (2006). Bioacumulation of Trace Elements in a Wild Grass Three Years after the Aznalcóllar Mine Spill (South Spain). *Environmental Monitoring and Assessment*. 114: 169–189.
- 51. Krzyzak J., Lane T., Czerwinska A. (2006). The Potential use of Festuca Cultivars and Lignite for Phytostabilization of Heavy Metal Polluted soils. Chemicals as Intentional and Accidental Global Environmental Threats. 367–374.
- 52. Robinson B., Fernandez J. E., Madejon P., Marañon T., Murillo J. M., Green S., Clothier B. (2003). Phytoextraction: an assessment of biogeochimical and economic viability. *Plant and Soil*. 249, 117-125.
- 53. Environmental Protection Agency (2001). Calidad del aire, criterios para material particulado. Vol 1. Washington. U.S. EPA/600&P-65/001aF.
- 54. SSA. (23/12/1994). Diario Oficial de la Federación.Norma Oficial Mexicana NOM-025-SSA1-1993 que establece criterios para evaluar la calidad del aire ambiente, con respecto a material particulado. Valor de concentración máxima de material particulado para partículas suspendidas totales PST, partículas menores de 10 micrómetros PM<sub>10</sub> y

partículas menores de 2.5 micrómetros PM<sub>2.5</sub> en el aire ambiente como medida de protección a la salud de la población, para quedar como Norma Oficial Mexicana NOM-025-SSA1-1993, Salud ambiental. Criterios para evaluar el valor límite permisible para la concentración de material particulado. Valor límite permisible para la concentración de partículas suspendidas totales PST, partículas menores de 10 micrómetros PM<sub>10</sub> y partículas menores de 2.5 micrómetros PM<sub>2.5</sub> de la calidad del aire ambiente. Criterios para evaluar la calidad del aire. [on line]

Disponible

en: <a href="http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/025ssa193.html">http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/025ssa193.html</a> (20/04/2010).

- 55. SSA. (23/12/1994). Diario Oficial de la Federación. NOM-026-SSA1-1993. Que establece el criterio para evaluar la calidad del aire ambiente con respecto al plomo (Pb). Valor normado para la concentración de plomo (Pb) en el aire ambiente, como medida de protección a la salud de la población. [on line] Disponible en: < <a href="http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/026ssa13.html">http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/026ssa13.html</a> > (20/04/2010)
- 56. Organización Mundial de la Salud (2000). Guia para la Calidad del Aire en Europa. OMS Publicaciones regionales. Copenague, Dinamarca. Oficina Regional para Europa.
- 57. Vázquez R., Agha A., Granado A., Sarro M., Esteban E., Peñalosa J., Carpena R. (2006). Use of lupin plant for Phytostabilization of Cd and As Polluted Soil. *Water, Air & Soil Pollution*. 177: 349–365.

- 58. Shah H., Shaheen N. (2008). Annual and Seasonal Variations of Trace

  Metals in Atmospheric Suspended Particulate Matter in Islamabad,

  Pakistan. Water, Air & Soil Pollution. 190:13-25.
- 59. Basha S., Mansing P., Bhagwank R., Harikrishna R., Kumas S., Anand N., Hemantbhai S., Haresh K., Jha B. (2007). Heavy Metal Content of Suspended Particulate Matter at World\_s Largest Ship-Breaking Yard, Alang-Sosiya, India. Water, Air & Soil Pollution. 178: 373-384.
- 60.Lv W., Wang Y., Querol X., Zhuang X., Alastuey A., Lopez A., Viana M. (2006). Geochemical and statistical analysis of trace metals in atmospheric particulates in Wuhan, central China. *Environmental Geology*. 51:121-132.
- 61. Ali M., Athar M. (2008). Air pollution due to traffic, air quality monitoring along three sections of National Highway N-5, Pakistan. *Environmental Monitoring and Assessment*. 138:219-226
- 62. Cao X., Dermatas D., Xu X., Shen G. (2008). Immobilization of Lead in Shooting Range Soils by Means of Cement, Quicklime, and Phosphate Amendments. *Environmental Science and Pollution Research*. 15(2):120-127.
- 63. Bell F. (1996). Lime stabilization of clay minerals and soil. *Engineering Geology*. 42: 223-237.
- 64. Vangronsveld J., Herzig R., Weyens N., Boulet J., Adriaensen K., Ruttens A., Thewys T., Vassilev A., Meers E., Nehnevajova E., Van der Lelie D., Mench M. (2009). Phytoremediation of contaminated soils and

- groundwater: lessons from the field. *Environmental Science and Pollution*Research. 16:765-794.
- 65. Ge Y., Wang Z. (2005). Bermudagrass (*Cynodon* spp.) From: *Methods in Molecular Biology, vol. 344:* Agrobacterium *Protocols, 2/e, volume* 2Edited by: Kan Wang © Humana Press Inc., Totowa, NJ
- 66. Archer M., Caldwell R. (2004) Response of six Australian plant species to heavy metal contamination at an abandoned mine site. *Water, Air & Soil Pollution*. 157:257-267.
- 67. Vamerali T., Bandiera M., Mosca G. (2009). Field crops for phytoremediation of metal-contaminated land. A review. *Environmental Chemistry Letters*. 8:1-17.
- 68. Soriano M., Fereres E. (2003). Use of crops for *in situ* phytoremediation of polluted soils following a toxic flood from a mine spill. *Plant and Soil.* 256: 253-264.
- 69. Friesl-Hanl W., Platzer K., Horak O., Gerzabek M. (2009). Immobilising of Cd, Pb, and Zn contaminated arable soils close to a former Pb/Zn smelter: a field study in Austria over 5 years. *Environmental Geochemistry and health.* 31:581-594.