

BIODISPONIBILIDAD Y FRACCIONAMIENTO DE METALES PESADOS EN SUELOS AGRÍCOLAS ENMENDADOS CON BIOSÓLIDOS DE ORIGEN MUNICIPAL

Eduardo GONZÁLEZ-FLORES¹, Mario Alberto TORNERO-CAMPANTE¹,
Engelberto SANDOVAL-CASTRO¹, Andrés PÉREZ-MAGAÑA¹ y
Alberto José GORDILLO-MARTÍNEZ²

¹ Colegio de Postgraduados, Campus Puebla, km 125.5 Carretera Federal México-Puebla, Santiago Momoxpan, San Pedro Cholula, Pue., México, C.P. 72760. Correo electrónico: egonz1962@yahoo.com.mx

² Centro de Investigaciones Químicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, carretera Pachuca-Tulancingo, km. 4.5, Pachuca, Hidalgo, México, C.P. 42076

(Recibido junio 2010, aceptado agosto 2011)

Palabras clave: especiación, extracción química secuencial, lodos residuales, elementos traza

RESUMEN

Los biosólidos originados en el tratamiento de aguas residuales municipales se utilizan en suelos agrícolas como una fuente de nutrimentos y de materia orgánica. Su contenido de metales pesados puede restringir su uso como enmienda agrícola por el riesgo potencial de introducirlos a las redes tróficas. La determinación de la concentración total de metales pesados en suelos enmendados con biosólidos es un criterio insuficiente para evaluar el riesgo. Los metales pesados se encuentran unidos a los diferentes componentes sólidos del suelo, los cuales de acuerdo con sus características fisicoquímicas presentan diferente disponibilidad. El objetivo de este trabajo fue determinar las concentraciones biodisponibles y la distribución de Cd, Cu, Ni, Pb y Zn en suelos enmendados con biosólidos en un periodo de seis años y establecer si existe relación entre la biodisponibilidad y la distribución de los metales con la antigüedad de su aplicación. Se utilizó un procedimiento de extracción química secuencial de cuatro etapas para determinar las concentraciones de los metales mencionados en cuatro fracciones químicas definidas operacionalmente y que representan la biodisponibilidad y la distribución de los metales en los suelos enmendados. Las concentraciones totales se determinaron por medio de una digestión ácida en sistema abierto. La cuantificación de los metales pesados se realizó por ICP-AES. El Cd no fue detectado. La biodisponibilidad de Cu y Pb decrece con la antigüedad de aplicación y la del Zn aumenta. La antigüedad de aplicación de los biosólidos, influyó en la redistribución de Cu, Pb y Zn en las cuatro fracciones extraídas. La distribución del Ni es menos afectada por la antigüedad de aplicación de los biosólidos. Los metales estudiados están retenidos en un alto porcentaje en las fracciones más estables, oxidable y residual. La fracción biodisponible de cada metal muestra bajos porcentajes, lo cual indica escasa disponibilidad en el suelo y por lo tanto un bajo riesgo de que sean incorporados a las redes tróficas.

Key words: speciation, sequential chemical extraction, sewage sludge, trace elements

ABSTRACT

The biosolids originated in the treatment of municipal wastewater are used in agricultural soils as a source of nutrients and organic matter. Heavy metal content may restrict their use as agricultural amendment, due to the potential risk of introducing them into food webs. To determine the total concentration of heavy metals in soils amended with biosolids is an insufficient criterion for assessing this risk. Heavy metals are bound to different solids components of soil, which according to their different physicochemical characteristics have different availability. The aim of this study was to determine distribution and bioavailable concentrations of Cd, Cu, Ni, Pb, and Zn in soil amended with biosolids in a period of six years and a possible relationship between the bioavailability and distribution of metals with the age of application. It was used a sequential chemical extraction procedure of four steps for determining the concentrations of Cd, Cu, Ni, Pb, and Zn in four operationally defined chemical fractions that represent the bioavailability and distribution of metals in the amended soils. The total concentrations were determined by an open system acid digestion. The quantification of heavy metals was performed by ICP-AES. The Cd was not detected. The bioavailability of Cu and Pb decreases with age of application and Zn increases. The age of application of biosolids influenced the redistribution of Cu, Pb, and Zn in the four extracted fractions. The distribution of Ni is less affected by the age of application of biosolids. The metals studied are held in a high percentage in the more stable fractions, oxidizable and residual. The bioavailable fraction of each metal shows low percentages, indicating low availability in the soil and therefore a low risk of being incorporated into food webs.

INTRODUCCIÓN

La disposición final de los residuos sólidos (biosólidos) generados por las plantas de tratamiento de aguas residuales es un problema creciente en las grandes zonas urbanas. Por su alto contenido de materia orgánica (MO) y de nutrientes como N y P, la opción de emplearlos como enmendadores de suelos agrícolas parece adecuada desde los puntos de vista agronómico y económico (McBride 2003).

Los avances tecnológicos y una legislación ambiental cada vez más estricta han propiciado un mejoramiento tanto en el proceso mismo de tratamiento de las aguas residuales, como en los procesos de estabilización de los lodos residuales. Esto ha generado una producción de biosólidos con una calidad que los hace propicios para su uso agrícola debido a que están prácticamente libres de patógenos y con alto porcentaje de MO y de nutrientes. Sin embargo, el contenido y la disponibilidad de metales pesados es uno de los principales factores que pueden restringir el empleo de biosólidos como enmiendas de suelos (O'Connor *et al.* 2005).

La aplicación repetida de biosólidos en suelos dedicados a la producción agrícola puede llevar a un incremento en el contenido total de metales pesados y en las formas químicas disponibles para los seres vivos. Esta disponibilidad química es la que se ha denominado como biodisponibilidad (De las Heras *et al.* 2005).

El riesgo para la salud humana y para los agroecosistemas a partir de la aplicación de biosólidos en suelos agrícolas depende de la solubilidad y de la biodisponibilidad de los metales pesados. Las reacciones químicas entre los metales pesados y los componentes sólidos de suelos y biosólidos determinan su solubilidad y biodisponibilidad (Basta *et al.* 2005). Estas reacciones son temporales. Algunas ocurren en segundos, en horas o en días, mientras que otras son mucho más lentas y se llevan a cabo en meses e incluso años (Sparks 2003).

Conocer la concentración total de metales pesados en suelos enmendados con biosólidos proporciona información muy limitada sobre el comportamiento y el destino de estos elementos (Fuentes *et al.* 2008). El contenido total se encuentra repartido en distintas fracciones o formas químicas. La determinación de la concentración de metales pesados en las diferentes fases sólidas presentes en el suelo (orgánica y mineral) y en los biosólidos puede ser más útil para conocer su distribución y predecir su comportamiento, lo cual incluye la solubilidad, la movilidad, la biodisponibilidad y por lo tanto la toxicidad (Hettiarachchi *et al.* 2002, Covelo *et al.* 2007). La metodología por medio de la cual es posible obtener esta información se conoce como especiación química o fraccionamiento.

La extracción química, simple o secuencial, de metales pesados es una técnica empleada para el fraccionamiento de los metales pesados presentes

en muestras sólidas tales como suelos, suelos enmendados, biosólidos, sedimentos, etc. (Rao *et al.* 2008). En este trabajo se usó el esquema propuesto por la Comisión Europea a través del Community Bureau of Reference (BCR), que a partir del año 2002 se denomina Standard Measurement and Testing Program (SM&TP). En la actualidad existen muchos esquemas de extracción química secuencial; sin embargo, esa gran variedad de procedimientos provoca que los resultados obtenidos en distintos estudios no sean comparables debido a las condiciones experimentales tan diferentes que establece cada protocolo de extracción. Ante esta situación la Comunidad Europea por medio del BCR, inició un programa para armonizar la metodología utilizada en los esquemas de extracción química secuencial para la determinación de metales pesados en muestras sólidas (López y Mandado 2002). El protocolo de extracción secuencial BCR permite obtener tres fracciones definidas operacionalmente; es decir, de acuerdo con las características químicas de las soluciones extractantes y aunque no la incluye en su protocolo, el procedimiento de extracción secuencial BCR recomienda una cuarta fracción conocida como residual. Las fracciones extraídas son las siguientes:

Etapas 1. Fracción intercambiable. Esta fracción incluye metales adsorbidos débilmente sobre superficies sólidas del suelo (arcillas, óxidos de Fe y Mn, materia orgánica) y que están retenidos por una interacción electrostática relativamente débil. Estos metales pueden ser liberados por un proceso de intercambio iónico. Los iones metálicos intercambiables son una medida de aquellos metales pesados que son liberados más fácilmente en la solución del suelo. Esta etapa representa la fracción con mayor biodisponibilidad.

Etapas 2. Fracción reducible. Se extraen metales pesados asociados principalmente a óxidos e hidróxidos de Fe y Mn. Los metales pueden estar enlazados a los óxidos de Fe y Mn por alguno de los siguientes mecanismos o la combinación de ellos: la coprecipitación, la adsorción, la formación de complejos de superficie, el intercambio iónico y la penetración en la estructura cristalina. Los metales pesados unidos a estos minerales son inestables en condiciones reductoras. Esta fracción ocupa el segundo lugar respecto a la biodisponibilidad de metales pesados hacia la solución del suelo.

Etapas 3. Fracción oxidable. Los metales pesados pueden estar asociados por medio de reacciones de complejación a la MO del suelo. Las formas metálicas solubles son liberadas cuando la MO es atacada en condiciones oxidantes severas. La biodisponibilidad de

esta fracción depende en gran medida del tipo de MO.

La cuarta fracción recomendada por el protocolo de extracción BCR, proporciona información sobre la concentración de metales que no fueron extraídos en las etapas anteriores y que se considera están recluidos en la estructura cristalina de minerales primarios. Por lo tanto su biodisponibilidad es muy baja.

En la ciudad de Puebla, México, ubicada en la región central del país, se está generando un volumen anual aproximado de 80 000 m³ de biosólidos, distribuidos en las cinco plantas de tratamiento con que cuenta la ciudad. Como método de disposición final de los biosólidos, se les está utilizando como enmendadores en suelos agrícolas de comunidades rurales ubicadas en la periferia de la ciudad con precipitación limitada. Los suelos de esta zona son delgados, pobres en MO, baja fertilidad y por lo tanto su productividad también es baja. En opinión de los agricultores de la zona, la aplicación de biosólidos, les ha permitido aumentar los rendimientos y como consecuencia recibir mayor ingreso.

Los objetivos de este estudio fueron: conocer y comparar la biodisponibilidad de Cd, Cu, Ni, Pb y Zn en suelos agrícolas, los cuales fueron enmendados con biosólidos en diferentes años, y determinar si existe relación directa entre la antigüedad de aplicación y la concentración biodisponible. Así como determinar si la distribución de estos metales en las distintas fracciones químicas establecidas por el procedimiento de extracción secuencial BCR es afectada en el transcurso del tiempo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los suelos estudiados se localizan en la comunidad de La Paz Tlaxcolpan (18° 54' 21" N, 98° 13' 16" O), ubicada al sur del municipio de Puebla, México. Los suelos de esta zona, que en su gran mayoría están clasificados como Cambisol Háptico (Éutrico) (INEGI 2000, WRB 2008), han sido enmendados con biosólidos desde 2003. Para la realización de este estudio se eligieron seis parcelas de 1 ha. En cada uno de estos terrenos se realizó una sola aplicación de biosólidos con una dosis de 40 t ha⁻¹, en el periodo comprendido entre 2003 y 2008. Las muestras fueron tomadas en junio de 2009. Por lo tanto la antigüedad de aplicación en estas parcelas fue de seis, cinco, cuatro, tres, dos y un año, respectivamente. También se eligió una parcela sin aplicación de biosólidos como tratamiento testigo. La incorporación de biosólidos al suelo se realizó con tracción mecánica, se sembró maíz (*Zea mays* L.). Las labores de cultivo, desde la

siembra hasta la cosecha, fueron las que habitualmente realizan los productores de la comunidad.

Utilizando el método de zigzag, en cada una de las siete parcelas se tomaron diez submuestras a una profundidad de 0 a 30 cm. Las muestras se homogeneizaron y se usó el método del cuarteo para formar siete muestras compuestas de aproximadamente 1 kg cada una, las cuales se colocaron en bolsas de polietileno para su traslado al laboratorio (SEMARNAT 2000). Las muestras se secaron al aire a temperatura ambiente, se molieron y se tamizaron en una malla número 40 para obtener un tamaño de partícula < 0.420 μm . Pérez-Cid *et al.* (1996) establecen que existe una mayor eficiencia de extracción cuando el tamaño de partícula es menor. Las muestras se almacenaron en recipientes de polietileno a temperatura ambiente.

Para el fraccionamiento de Cd, Cu, Ni, Pb y Zn, se utilizó el procedimiento de extracción secuencial BCR de tres etapas (Rauret *et al.* 2000). Se aplicó a tres repeticiones y a un blanco. El blanco consistió en la solución extractante correspondiente a cada etapa del procedimiento. Todas las soluciones extractantes fueron preparadas con reactivos grado analítico (J.T. Baker) y agua tridestilada. Todo el material en contacto con muestras y reactivos se remojó en una solución de ácido nítrico 4 M durante 24 h y se enjuagó repetidamente con agua tridestilada. La secuencia de extracción fue la siguiente:

Etapa 1. Fracción intercambiable. 20 mL de ácido acético 0.11 M se agregaron a 1 g de muestra en un tubo de centrifuga de 38 mL de polipropileno. El tubo se puso en agitación (agitador horizontal Thermolyne) durante 16 h a temperatura ambiente. El extracto se separó del residuo sólido por centrifugación a 2400 rpm durante 20 min, en una centrifuga Beckman GS-15R. El líquido sobrenadante se filtró a través de papel filtro Whatman No. 40 y se almacenó a 4 °C hasta su análisis. El residuo sólido se lavó con 20 mL de agua tridestilada por agitación durante 15 min y se centrifugó durante 20 min a 2400 rpm. El sobrenadante se desechó.

Etapa 2. Fracción reducible. Al residuo de la etapa uno se agregaron 20 mL de clorhidrato de hidroxilamina 0.5 M (pH=2, ajustado con ácido nítrico concentrado). Se agitó durante 16 h a temperatura ambiente. La separación del extracto y el lavado del residuo sólido se realizaron como se describe en la etapa anterior. El extracto se filtró y se almacenó a 4 °C para su análisis.

Etapa 3. Fracción oxidable. Al residuo de la etapa anterior se agregaron 10 mL de peróxido de hidrógeno 8.8 M. La digestión se llevó a cabo por una hora a temperatura ambiente con el tubo tapado, con agi-

tación manual ocasional. La digestión continuó por una hora a 85 °C en un baño de agua. Se destapó el tubo y se redujo el volumen por evaporación hasta aproximadamente 1 mL. Se adicionaron otros 10 mL de peróxido de hidrógeno se tapó el tubo y la digestión prosiguió por otra hora a 85 °C. Se destapó el tubo y el volumen se redujo por evaporación hasta 1 mL aproximadamente. Al residuo sólido, húmedo y frío, se agregaron 25 mL de acetato de amonio 1.0 M (pH=2, ajustado con ácido nítrico concentrado). Se agitó durante 16 h a temperatura ambiente. El proceso de separación del extracto y el lavado del residuo se realizaron como en las etapas previas. El líquido sobrenadante se filtró y se almacenó en un recipiente de polietileno a 4 °C para su análisis.

Etapa adicional. Fracción residual. Como se mencionó anteriormente, el protocolo de extracción secuencial BCR no contempla la determinación de la fracción residual, pero recomienda realizarla para cuantificar la concentración de metales pesados que no fue extraída en las tres etapas indicadas anteriormente.

Para determinar la concentración de metales pesados en la fracción residual y la concentración total en las muestras de suelo, se utilizó el método EPA 3050B (USEPA 1996), propuesto por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América (USEPA, por sus siglas en inglés), que consiste en una digestión de la muestra en medio ácido (Hernández *et al.* 2005).

Se determinaron parámetros agronómicos como textura, pH y MO en las muestras de los siete suelos estudiados de acuerdo con la metodología establecida en la norma correspondiente para estudios de fertilidad de suelos (SEMARNAT 2000).

La cuantificación de la concentración de metales en todos los extractos se hizo por medio de un equipo (Varian Liberty Series II) de espectrometría de emisión atómica por plasma acoplado inductivamente (ICP-AES). Las condiciones de operación del equipo se muestran en el **cuadro I**.

RESULTADOS

Biodisponibilidad de los metales pesados

El cadmio no fue detectado en ninguno de los extractos, en los correspondientes al procedimiento de extracción secuencial, ni en los de la determinación del contenido total. La **figura 1** muestra las concentraciones encontradas de Cu, Ni, Pb y Zn en la fracción de mayor biodisponibilidad (fracción intercambiable), en función de la antigüedad de

CUADRO I. CONDICIONES DE OPERACIÓN DEL EQUIPO DE ICP-AES

Elemento	Longitud de onda (nm)	Límite de detección (mg L ⁻¹)
Cd	226.502	0.05
Cu	327.396	0.03
Ni	231.604	0.01
Pb	220.353	0.20
Zn	206.200	0.01
Potencia generador de radio frecuencia (kw)		1.1
Frecuencia del generador (MHz)		40.0
Velocidad de flujo gas enfriante (L m ⁻¹)		16.5
Velocidad de flujo gas auxiliar (L m ⁻¹)		2.25
Velocidad de flujo gas nebulizador (L m ⁻¹)		1.5

aplicación de biosólidos en los suelos. La mayor biodisponibilidad de Cu y Pb se presentó en el suelo con un año después de la aplicación de biosólidos. El níquel tuvo su mayor biodisponibilidad en el suelo con mayor antigüedad de aplicación (6 años) y el zinc mostró su mayor concentración biodisponible después de seis años de aplicados los biosólidos.

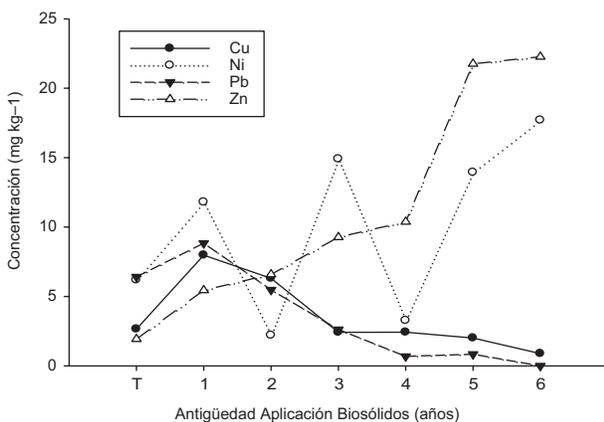


Fig. 1. Variación de la biodisponibilidad de Cu, Ni, Pb y Zn en función de la antigüedad de aplicación de biosólidos (T = Testigo)

Distribución de los metales pesados

En el fraccionamiento de metales pesados se encontró que el cobre se distribuyó en mayor proporción en la fracción oxidable y la fracción residual en suelos con antigüedad de aplicación de biosólidos de uno, dos y tres años (**Fig. 2**). En suelos con cuatro, cinco y seis años después de la adición de biosólidos su distribución mostró los porcentajes más altos en

la fracción reducible y en la fracción residual. En el testigo casi el 80 % de cobre se encontró en la fracción residual, un 10 % en la fracción oxidable y cerca de un 5 % en la fracción intercambiable. El testigo mostró mayor porcentaje de cobre en la fracción intercambiable que los suelos con biosólidos con excepción del suelo con la aplicación más reciente (después de un año).

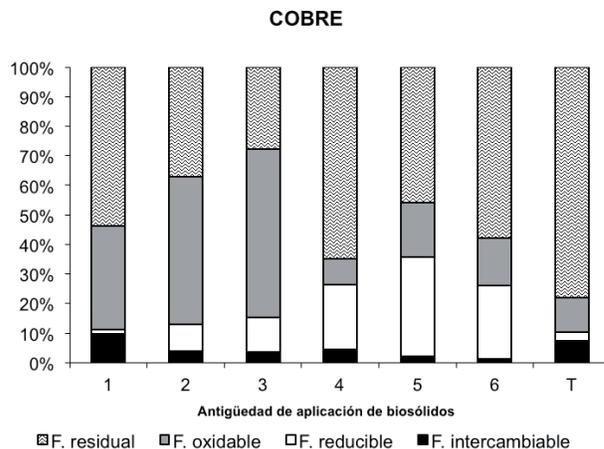


Fig. 2. Distribución porcentual de cobre en función de la antigüedad de aplicación de biosólidos en las cuatro fracciones extraídas por el procedimiento de extracción secuencial (T = Testigo)

El níquel (**Fig. 3**) estuvo presente entre 25 a 30 % en la fracción intercambiable después de uno, tres, cinco y seis años de aplicados los biosólidos en esos suelos. En el testigo se encontró casi un 20 % de níquel en la fracción intercambiable. En todos los suelos el níquel mostró un bajo porcentaje en

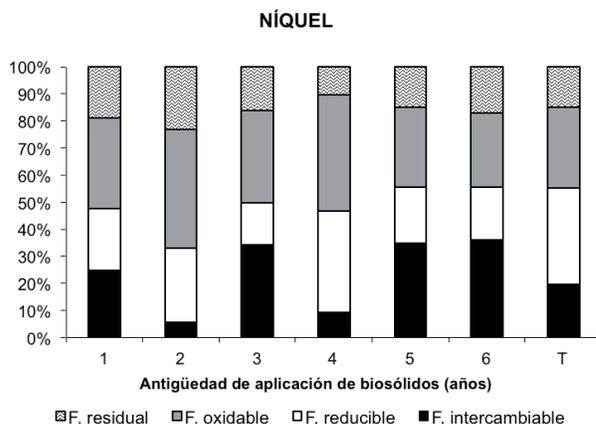


Fig. 3. Distribución porcentual de níquel en función de la antigüedad de aplicación de biosólidos en las cuatro fracciones extraídas por el procedimiento de extracción secuencial (T = Testigo)

la fracción residual y en la fracción oxidable se mantuvo casi constante el porcentaje en todos los suelos incluyendo al testigo. En la fracción reducible los porcentajes de níquel fueron similares en suelos con antigüedad de aplicación de uno, dos, cinco y seis años y en el testigo el porcentaje de níquel en esta fracción fue superior a la de todos los suelos enmendados con biosólidos.

El plomo se encontró en elevados porcentajes en las fracciones oxidable y residual (**Fig. 4**). En todos los suelos incluyendo al testigo las dos fracciones juntas alcanzaron entre un 70% y un 90 % del total. El porcentaje más alto de plomo (25 %) en la fracción intercambiable se encontró en el suelo con la aplicación más reciente de biosólidos. A medida que la antigüedad de adición de biosólidos se incrementó, el porcentaje decreció hasta llegar a cero en el suelo con mayor antigüedad de aplicación (seis años). En el testigo el plomo alcanzó casi un 20 % en la fracción intercambiable. En la fracción reducible tuvo escasa presencia en todos los suelos incluyendo al testigo con la excepción del suelo con la mayor antigüedad de aplicación, en donde el porcentaje llegó a casi al 50 %.

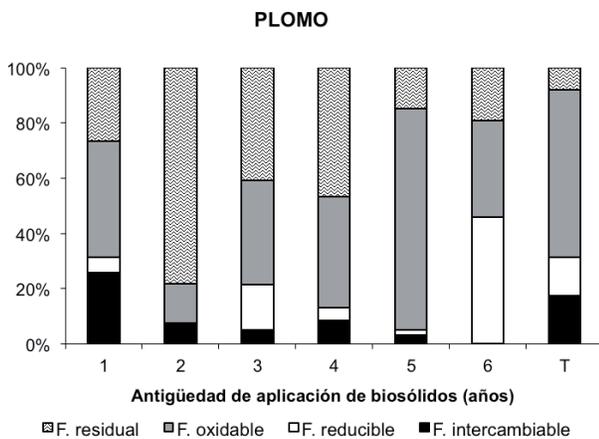


Fig. 4. Distribución porcentual de plomo en función de la antigüedad de aplicación de biosólidos en las cuatro fracciones extraídas por el procedimiento de extracción secuencial (T = Testigo)

La distribución de zinc (**Fig. 5**) mostró tendencia a incrementar el porcentaje de este metal en la fracción intercambiable cuando la antigüedad de aplicación de biosólidos en los suelos fue mayor. En el suelo con cinco años de antigüedad de aplicación llegó a casi 35 %. La fracción oxidable mostró una tendencia inversa: a mayor antigüedad de aplicación menor porcentaje de zinc. La presencia de zinc en la fracción reducible fue muy poca en todos los suelos, excepto en el testigo donde llegó al 20 %. En la fracción residual del testigo el zinc alcanzó un porcentaje del

65 %. En general el zinc tuvo los porcentajes más altos en las fracciones oxidable y residual en todos los suelos incluyendo al testigo y la fracción dominante fue la oxidable.

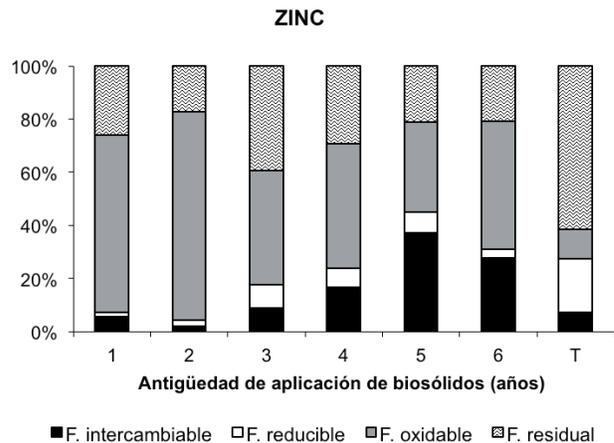


Fig. 5. Distribución porcentual de zinc en función de la antigüedad de aplicación de biosólidos en las cuatro fracciones extraídas por el procedimiento de extracción secuencial (T = Testigo)

Concentración total

El cobre tuvo sus concentraciones totales más altas en los suelos con antigüedad de aplicación de dos, cinco y un año, en ese orden. La concentración total de cobre no mostró tendencia a incrementar o disminuir con la antigüedad de aplicación de los biosólidos. Para el níquel las concentraciones totales se mantienen casi constantes en los seis suelos enmendados con biosólidos y el testigo presentó una concentración similar. Las concentraciones totales de plomo fueron más elevadas en suelos con antigüedad de aplicación de dos, tres y un año, en ese orden.

El plomo tampoco mostró alguna tendencia en función de la antigüedad de aplicación de biosólidos. El testigo tuvo una concentración total de plomo más alta que la de todos los suelos tratados con biosólidos, excepto las de suelos con dos y tres años de antigüedad de aplicación. El zinc presentó las concentraciones totales más altas de los cinco metales pesados en los suelos con biosólidos. Para el suelo con antigüedad de aplicación de dos años se encontró una concentración total superior a los 300 mg kg⁻¹. El testigo presentó una concentración total baja en comparación con las obtenidas en los suelos con biosólidos. El **cuadro II** muestra comparativamente, para todos los elementos estudiados y en todos los suelos, las concentraciones totales y las concentraciones en la fracción intercambiable. Esta última indica la biodisponibilidad de cada metal.

CUADRO II. VALORES DE LA CONCENTRACIÓN TOTAL Y DE LA CONCENTRACIÓN EN LA FRACCIÓN INTERCAMBIABLE (MEDIA ± S, n = 3) DE Cu, Ni, Pb y Zn EN MUESTRAS DE SUELOS CON DIFERENTE ANTIGÜEDAD DE APLICACIÓN DE BIOSÓLIDOS

Antigüedad aplicación (años)	Elementos [†]							
	Cu		Ni		Pb		Zn	
	FI (mg kg ⁻¹)	CT (mg kg ⁻¹)	FI (mg kg ⁻¹)	CT (mg kg ⁻¹)	FI (mg kg ⁻¹)	CT (mg kg ⁻¹)	FI (mg kg ⁻¹)	CT (mg kg ⁻¹)
1	7.97 ± 9.07	83.6 ± 2.62	11.8 ± 1.12	52.8 ± 3.77	8.83 ± 8.41	38.2 ± 3.92	4.42 ± 2.08	102.0 ± 9.0
2	6.30 ± 0.37	162.5 ± 6.55	2.20 ± 2.52	37.1 ± 8.98	5.47 ± 4.94	75.0 ± 5.45	6.68 ± 3.54	310.0 ± 15.64
3	2.41 ± 2.13	74.0 ± 2.82	14.90 ± 6.05	48.5 ± 2.91	2.61 ± 2.27	58.6 ± 3.33	9.27 ± 3.17	126.5 ± 3.19
4	2.42 ± 3.41	55.07 ± 3.71	3.27 ± 1.79	38.7 ± 1.73	0.68 ± 1.21	13.4 ± 1.67	10.37 ± 11.1	59.2 ± 3.74
5	2.01 ± 1.36	98.57 ± 1.35	13.94 ± 11.78	38.5 ± 5.96	0.83 ± 1.34	32.8 ± 9.68	38.75 ± 5.14	110.0 ± 2.90
6	0.88 ± 0.87	71.5 ± 0.92	17.7 ± 15.79	52.6 ± 6.51	ND	18.0 ± 4.93	22.26 ± 5.12	81.0 ± 4.35
Testigo	2.64 ± 4.58	49.4 ± 1.52	6.18 ± 8.51	35.2 ± 1.20	6.41 ± 6.54	41.0 ± 2.31	1.93 ± 0.96	30.1 ± 2.81

[†]El cadmio no fue detectado en la concentración total ni en ninguna de las fracciones extraídas
 FI, fracción intercambiable; CT, concentración total; ND, no detectado

Características fisicoquímicas de los suelos enmendados

En el **cuadro III** se muestran los resultados correspondientes a los principales parámetros agronómicos que influyen de manera determinante en la disponibilidad y la distribución de los metales pesados en el suelo (Basta *et al.* 2005). La textura fue la misma para los suelos con uno, dos, tres y cinco años de antigüedad de aplicación de biosólidos y el testigo (franco-arcillosa). Para los suelos con cuatro y seis años de antigüedad la textura fue franco-arcillo-arenosa. El valor del pH y el porcentaje de MO muestran tendencias similares al transcurrir el tiempo de aplicación de biosólidos. Tienen sus valores más altos en el primero y segundo año después de la adición de biosólidos, respectivamente. A partir de ese punto ambos parámetros tienen un descenso gradual a mayor antigüedad de aplicación y llegan a alcanzar valores cercanos a los del testigo.

DISCUSIÓN

Como se observa en los resultados obtenidos para la fracción intercambiable o biodisponible, no existe, de forma general, una relación directa entre antigüedad de aplicación de biosólidos y el aumento o la disminución de la biodisponibilidad para los metales estudiados (**Fig. 1**). Cada metal responde de manera diferente a la antigüedad de aplicación de biosólidos.

Las concentraciones biodisponibles, de cobre y plomo, en los seis suelos son muy cercanas a las del testigo. Esto indica un efecto muy pequeño ejercido por la adición de biosólidos en la biodisponibilidad de estos dos metales en los suelos estudiados que muestran una tendencia consistente con la disminución en el transcurso del tiempo.

De acuerdo con Basta *et al.* (2005), el cobre y el plomo forman complejos fuertemente enlazados con la MO. Por lo tanto, la adición de la MO presente en los biosólidos explicaría la baja disponibilidad

CUADRO III. CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS MÁS IMPORTANTES (MEDIA ± S, n = 3) DE LAS MUESTRAS DE SUELOS CON DIFERENTE ANTIGÜEDAD DE APLICACIÓN DE BIOSÓLIDOS

Antigüedad aplicación (años)	Textura	pH	Materia orgánica (%)
1	Franco-Arcillosa	7.41 ± 0.22	1.27 ± 0.06
2	Franco-Arcillosa	7.24 ± 0.11	3.48 ± 0.30
3	Franco-Arcillosa	7.30 ± 0.20	1.45 ± 0.04
4	Franco-Arcillo-Arenosa	7.20 ± 0.10	0.58 ± 0.02
5	Franco-Arcillosa	7.15 ± 0.15	0.98 ± 0.22
6	Franco-Arcillo-Arenosa	6.95 ± 0.16	0.68 ± 0.04
Testigo	Franco-Arcillosa	6.22 ± 0.11	0.52 ± 0.05

de estos metales, además de que el pH ligeramente alcalino (**Cuadro III**) también es un factor que inhibe la biodisponibilidad de los metales. Esto sugiere que a pesar de la disminución en el contenido de MO con el transcurso del tiempo los metales quedan fuertemente retenidos en la MO remanente. El rango entre la concentración más alta (después de un año de aplicación de biosólidos) y la más baja (después de seis años de aplicación) es muy pequeño. McGrath *et al.* (2000) encontraron que la biodisponibilidad de cobre y plomo es más alta durante los primeros tres años siguientes a la aplicación de biosólidos seguida por una más baja pero sostenida biodisponibilidad. Lo cual es muy similar a los resultados obtenidos en este estudio para estos dos metales.

Aunque la variación de las concentraciones biodisponibles del níquel muestra un comportamiento irregular, debido a que incrementan y disminuyen de manera alternada con el transcurso del tiempo después de la aplicación de biosólidos, el resultado final es una tendencia a incrementarse a mayor antigüedad de aplicación. Los suelos con uno, tres y cinco años después de haberse aplicado los biosólidos muestran concentraciones similares y más altas que las de los suelos con dos y cuatro años de antigüedad de aplicación, que son las más bajas (**Fig. 1**). Un comportamiento similar del níquel también ha sido encontrado por Bacon *et al.* (2005) en estudios de fraccionamiento, pero en un periodo de estudio de 12 años después de la aplicación de biosólidos.

Las concentraciones biodisponibles de Ni en los suelos con biosólidos sí muestran un incremento considerable con respecto a la del testigo. Esto significa que la adición de biosólidos eleva los niveles de biodisponibilidad del níquel en los suelos, al aumentar la antigüedad de aplicación.

Kabata-Pendias y Pendias (2000) establecen que el níquel forma complejos débilmente enlazados con la MO de los biosólidos. Esto significa que con el proceso de descomposición que sufre la MO con el tiempo, el níquel pasa a una forma química disponible y si no es retenido por otra fracción del suelo, puede permanecer en la solución del suelo y ser absorbido por las raíces de las plantas. Los resultados mostrados en el **cuadro III** indican que a mayor antigüedad de aplicación hay menor contenido de MO, situación que podría estar asociada con la mayor disponibilidad de níquel con el transcurso del tiempo que muestra la **figura 1**. Sin embargo, las concentraciones son $< 18 \text{ mg kg}^{-1}$ en todos los suelos. El valor sugerido como normal para el níquel en el suelo por la normatividad mexicana es de 50 mg kg^{-1} (SEMARNAT 2000).

El zinc muestra una tendencia similar a la del

níquel e inversa a la del cobre y el plomo. Las concentraciones biodisponibles se incrementan con la antigüedad de aplicación de biosólidos. En los suelos con uno, dos, tres y cuatro años después de la aplicación, la biodisponibilidad del zinc aumenta sostenidamente aunque con incrementos muy pequeños. En los suelos con cinco y seis años después de la aplicación de biosólidos muestran los valores más altos. En un estudio similar de tres años, De las Heras *et al.* (2005) encontraron que los valores de la concentración de zinc son más altos tres años después de la aplicación de biosólidos.

La tendencia del zinc a incrementar su disponibilidad cuando la antigüedad de aplicación de biosólidos es mayor se debe, probablemente, a lo encontrado por Kiekens (1990), quien establece que el zinc forma quelatos solubles con la MO humificada (ácidos fúlvicos principalmente) y con la MO no humificada (aminoácidos), la cual es más fácil y rápidamente degradada por los microorganismos del suelo. Kabata-Pendias y Pendias (2000) establecen que la adición de biosólidos en suelos incrementa la fracción disponible del zinc.

De acuerdo con lo anterior y observando los datos mostrados en el **cuadro III** y en la **figura 1**, al decrecer el contenido de MO con la antigüedad de aplicación, la disponibilidad del zinc aumenta. Esto sugiere que la mayor parte de la MO adicionada al suelo con los biosólidos es no humificada ya que se observa en el **cuadro III** un rápido incremento de ésta en los primeros tres años después de la adición de biosólidos y a partir de ahí un decremento pronunciado al aumentar la antigüedad de aplicación. Sin embargo, el aumento del pH es un factor que disminuye la disponibilidad del zinc, porque a pesar de ser el metal con el contenido total más alto en todos los suelos (**Cuadro II**), la concentración biodisponible no alcanza los 25 mg kg^{-1} en ningún suelo.

La distribución de metales pesados obtenida por el procedimiento de extracción secuencial muestra en general que Cu, Pb y Zn están distribuidos en su mayor parte en las fracciones más estables, oxidable y residual en todos los suelos incluyendo al testigo. Esto significa que un alto porcentaje de las concentraciones determinadas para estos metales son no biodisponibles. El níquel tiene una distribución diferente; se encuentra en mayor proporción en las fracciones oxidable y reducible, en ese orden y tiene escasa presencia en la fracción residual.

La redistribución del cobre en los suelos cuando aumenta la antigüedad de aplicación (**Fig. 2**), es influenciada de manera determinante por la variación del contenido de MO (**Cuadro III**).

Cuando el contenido de MO es más alto, después de uno, dos y tres años de aplicados los biosólidos, se presenta mayor porcentaje de cobre en la fracción oxidable y al disminuir la MO, después de cuatro, cinco y seis años después de la adición de biosólidos, el porcentaje de cobre se reduce en la fracción oxidable. Este hecho indica que la MO desempeña un papel fundamental en la retención y distribución del cobre al transcurrir el tiempo (Kabata-Pendias y Mukherjee 2007). Otro hecho importante que se observa en la redistribución del cobre (**Fig. 2**), es que cuando la MO se descompone y mineraliza, libera al cobre unido a ella, pero éste no pasa a una forma química biodisponible, sino que parece ser adsorbido por la fracción mineral presente en la mezcla suelo-biosólidos (principalmente óxidos de Fe y Mn), aumentando la presencia del cobre en la fracción reducible como se observa en la **figura 2**. Brown y Parks (2001) encontraron que la adsorción a los óxidos de Fe y Mn es uno de los principales mecanismos de retención de metales en el suelo. Estos resultados indican que con el transcurso del tiempo, la fracción mineral del suelo empieza a retener los metales liberados de la fracción oxidable. De acuerdo con Granato *et al.* (2004), los metales que son liberados de la MO después de la aplicación de biosólidos pueden también reaccionar con los constituyentes inorgánicos de los propios biosólidos o del suelo, tales como los óxidos de Fe, Mn y Al y quedar retenidos reduciendo su disponibilidad a las plantas.

Para el níquel, existe un incremento-decremento alternado de la fracción intercambiable con el paso del tiempo. Esta situación ocasiona que alternadamente el níquel se redistribuya principalmente en las fracciones intercambiable y reducible. Cuando decrece la fracción intercambiable se incrementa la fracción reducible y viceversa. El níquel no tiene una afinidad muy fuerte con la MO y a pesar de formar complejos con ella, estos se encuentran débilmente enlazados (Sparks 2003). Probablemente a esto se deba que la fracción oxidable no tenga un papel preponderante en esta dinámica de redistribución. Por otra parte Brown y Parks (2001) encontraron que el níquel muestra una afinidad muy fuerte con los óxidos de Fe y Mn. En el testigo ya se observa que el níquel está en mayor porcentaje en la fracción reducible (**Fig. 3**). Esto sugiere que los metales liberados por la fracción intercambiable son adsorbidos por las fracciones minerales tanto del suelo como de los biosólidos, ocasionando el incremento de la fracción reducible. Pero también puede ocurrir una desorción alternada de estos metales que incrementan la fracción intercambiable. La fracción oxidable se mantiene casi en un porcentaje constante a través del

tiempo. Este comportamiento del níquel no ha sido aún reportado.

El plomo muestra una dinámica de redistribución con el transcurso del tiempo, semejante a la del cobre. Cuando aumenta la antigüedad de aplicación disminuye la concentración en la fracción intercambiable y se observan incrementos en las fracciones reducible y oxidable. La MO si muestra ser un factor determinante en la redistribución del plomo al aumentar la antigüedad de aplicación de biosólidos. La afinidad del plomo con la MO orgánica y la consecuente formación de complejos fuertemente unidos ha sido ampliamente documentada (Basta *et al.* 2005). Esto se observa en la **figura 4**. Aunque el contenido de MO disminuye en los suelos con mayor antigüedad de aplicación (**Cuadro III**) la mayor presencia del plomo se da en la fracción oxidable. Esto sugiere que este metal queda poderosamente retenido en la MO remanente y por lo tanto su presencia en la fracción disponible o intercambiable es muy escasa y disminuye con el tiempo. Strawn y Sparks (2000) y Brown *et al.* (2003) encuentran resultados similares para la distribución del plomo en su investigación sobre suelos enmendados con biosólidos.

Partiendo de la distribución encontrada en el testigo para el zinc (**Fig. 5**), se observa que el contenido de MO aportado por los biosólidos ejerce una marcada influencia en la redistribución de las fracciones obtenidas en función de la antigüedad de aplicación. La fracción intercambiable aumenta al transcurrir el tiempo. El incremento en esta fracción corresponde con un decremento de la fracción oxidable de manera consistente. Lo cual está asociado a la disminución del contenido de MO en los suelos con antigüedad de aplicación de cuatro, cinco y seis años (**Cuadro III**). Esta situación sugiere que cuando el zinc es liberado de la fracción orgánica es retenido por la fracción intercambiable. Lo cual incrementa la posibilidad de ser absorbido por las plantas. El trabajo de Almás *et al.* (2000) establece que aunque la MO presente en los biosólidos puede retener fuertemente metales pesados por largo tiempo, también puede suministrar ligandos orgánicos solubles al suelo y por lo tanto incrementar la potencial movilidad de los metales. Como en este caso ocurre con el zinc, debido a que este metal reacciona con la MO formando complejos débilmente enlazados (Kiekens 1990). Esto demuestra la gran importancia que tienen las fracciones orgánicas de los suelos y los biosólidos en la dinámica de la fracción biodisponible. Es conveniente señalar que el tipo de MO determinará el tiempo de retención de los metales (Bolan *et al.* 2003). La fracción reducible muestra pequeños incrementos al aumentar la antigüedad de aplicación

debido a que los óxidos de Fe y Mn no adsorben el Zn liberado por la MO.

En los resultados mostrados en el **cuadro II** se observa que, para el periodo de estudio, las concentraciones totales de Cu, Pb y Zn varían en incrementos y decrementos con la antigüedad de aplicación. Este comportamiento es debido, probablemente, a la variación de la calidad de los biosólidos en cuanto a su contenido de metales pesados y que fueron aplicados en cada parcela en diferente año. Walter *et al.* (2002) reportan similar inconsistencia en las concentraciones totales de estos metales en un periodo de estudio de cinco años. La concentración total del níquel muestra la menor variación.

En comparación con el testigo, la concentración total de Cu, Ni y Zn, es siempre más alta en los suelos que fueron tratados con biosólidos. Lo cual indica que la carga de metales pesados contenida en los biosólidos adicionados al suelo incrementa la concentración total. Para el plomo ocurre un fenómeno diferente. La concentración total es más alta en el testigo que en los suelos con biosólidos con antigüedad de aplicación de uno, cuatro, cinco y seis años. Esta situación sugiere, sobre todo en los suelos con cuatro y seis años de antigüedad de aplicación, que el plomo disponible probablemente fue lixiviado a los horizontes más profundos del suelo, para lo cual contribuiría de manera determinante la textura de ambos suelos (franco-arcillo-arenosa). Esto ocasiona una disminución en la concentración total de este metal a la profundidad que fueron tomadas las muestras.

La fracción intercambiable en el testigo presenta valores más altos para algunos metales que los suelos con biosólidos (**Cuadro II**). Para el cobre (en suelos con tres, cuatro, cinco y seis años de antigüedad de aplicación), el níquel (dos y cuatro años de antigüedad de aplicación) y el plomo (dos, tres, cuatro, cinco y seis años después de la adición de biosólidos). El factor más importante para que esto ocurra es la presencia de la MO aportada por los biosólidos. La materia orgánica resulta un elemento fundamental en la disminución de la biodisponibilidad (fracción intercambiable) por su gran capacidad de retención de metales pesados (Basta *et al.* 2005). El testigo carece de este aporte y en consecuencia presenta valores más altos para la fracción intercambiable en algunos casos.

La comparación de las concentraciones totales y las concentraciones intercambiables de los metales estudiados en todos los suelos, muestra que no existe correlación entre ambas. La variación de la concentración total no está asociada con la variación de la biodisponibilidad.

CONCLUSIONES

La concentración biodisponible (fracción intercambiable) de Cd, Cu, Ni, Pb y Zn en suelos enmendados con biosólidos no muestra una tendencia consistente para todos los metales. No aumenta o disminuye linealmente con el tiempo, después de la aplicación de biosólidos, en un periodo de seis años. Cada metal muestra una tendencia particular. La biodisponibilidad del cobre y del plomo disminuye con el transcurso del tiempo. La del níquel y la del zinc aumentan. Por lo tanto la antigüedad de la aplicación de biosólidos no influye de manera determinante en el aumento de la biodisponibilidad de los metales.

La distribución de Cu, Pb y Zn en las cuatro fracciones extraídas es modificada con la antigüedad de aplicación de los biosólidos. La distribución del níquel es la menos afectada.

Los metales estudiados están retenidos en un alto porcentaje en las fracciones más estables, oxidable y residual. La fracción intercambiable muestra porcentajes bajos, lo cual indica escasa biodisponibilidad.

La adición de biosólidos incrementa la concentración total de los metales en todos los suelos estudiados, pero esto no se asocia con un aumento de la concentración biodisponible.

El contenido de materia orgánica aportado por los biosólidos y la diferente afinidad que muestran hacia ella los metales estudiados, así como el proceso de descomposición y mineralización de la misma, lo cual está asociado con la antigüedad de la aplicación, son los factores más importantes que determinan la dinámica de la disponibilidad y de la redistribución del Cu, Ni, Pb y Zn en los suelos con biosólidos durante el periodo de estudio.

REFERENCIAS

- Almás A. R., McBride M. B. y Singh B. R. (2000). Solubility and lability of cadmium and zinc in two soils treated with organic matter. *Soil Sci.* 165, 250-259.
- Bacon J. R., Hewitt I. J. y Cooper P. (2005). Reproducibility of the BCR sequential extraction procedure in a long term study of the association of heavy metals with soil components in an upland catchment in Scotland. *Sci. Total Environ.* 337, 191-205.
- Basta N. T., Ryan J. A. y Chaney R. L. (2005). Trace element chemistry in residual-treated soil: Key concepts and metal bioavailability. *J. Environ. Qual.* 34, 49-63.
- Bolan N. S. y Duraisamy V. P. (2003). Role of inorganic and organic soil amendments on immobilisation and phytoavailability of heavy metals: a review involv-

- ing specific case studies. *Aust. J. Soil Research*. 41, 533-555.
- Brown G. E. y Parks G. A. (2001). Sorption of trace elements on mineral surface: Modern perspectives from spectroscopic studies, and comments on sorption in the marine environment. *Int. Geol. Rev.* 43, 963-1073.
- Brown S., Chaney R. L., Hallfrisch J. G. y Xue Q. (2003). Effect of biosolids processing on lead bioavailability in an urban soil. *J. Environ. Qual.* 32, 100-108.
- Covelo E. F., Vega F. A. y Andrade M. L. (2007). Competitive sorption and desorption of heavy metals by individuals soil components. *J. Hazard. Mat.* 140, 308-315.
- de las Heras J., Mañas P. y Labrador J. (2005). Effects of several applications of digested sewage sludge on soils and plants. *J. Environ. Sci. Health Part A* 40, 437-451.
- Fuentes A., Lloréns M., Sáez J., Aguilar M. I., Ortuño J. F. y Meseguer V. F. (2008). Comparative study of six different sludges by sequential speciation of heavy metals. *Bioresour. Technol.* 99, 517-525.
- Granato T. C., Pietz R. I., Knafl G. J., Carlson Jr. C. R., Tata P. y Lue-Hing C. (2004). Trace element concentrations in soil, corn leaves and grain after cessation of biosolids applications. *J. Environ. Qual.* 33, 2078-2089.
- Hernández H. J. M., Olivares S. E., Villanueva F. I., Rodríguez F. H., Vázquez A. R. y Pisan Z.J.F. (2005). Aplicación de lodos residuales, estiércol bovino y fertilizante químico en el cultivo de sorgo forrajero. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 21, 31-36.
- INEGI (2000). Carta Estatal Edafológica, Puebla. Esc: 1: 500 000. Síntesis Geográfica de Puebla. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. México.
- Hettiarachchi G. M., Ryan J. A. y Schekel K. G. (2002). Role of iron and manganese oxides in biosolids and biosolids-amended soils on metal binding. Abstracts of papers. 223rd. American Chemical Society National Meeting. Orlando, FL. 7 a 11 de abril, 2002.
- Kabata-Pendias A. y Pendias H. (2000). *Trace elements in soil and plants*. CRC Press, Michigan, 432 pp.
- Kabata-Pendias A. y Mukherjee A. B. (2007). *Trace elements from soil to human*. Springer, Berlin, Alemania, 550 p.
- Kiekens L. (1990). Zinc. En: *Heavy metals in soils*. (B. J. Alloway, Ed.). Wiley, Nueva York, pp. 260-279.
- López P. L. y Mandado J. M. (2002). Extracciones químicas secuenciales de metales pesados. Aplicación en ciencias geológicas. *Estudios Geol.* 58, 133-144.
- McBride M. B. (2003). Toxic metals in sewage sludge-amended soils: has promotion of beneficial use discounted the risks? *Adv. Environ. Res.* 8, 5-19.
- McGrath S. P., Zhao F. J., Dunham S. L., Crosland A. R. y Coleman K. (2000). Long-term changes in the extractability and bioavailability of zinc and cadmium after sludge application. *J. Environ. Qual.* 29, 875-883.
- O'Connor G. A., Elliot H. A., Basta N. T., Bastian R. K., Pierzynski, G. M., Sims, R. C. y Smith Jr., J. E. (2005). Sustainable land application: An overview. *J. Environ. Qual.* 34, 7-17.
- Pérez-Cid B., Lavilla I. y Bendicho C. (1996). Analytical assessment of two sequential extraction schemes for metal partitioning in sewage sludge. *Analyst* 121, 681-688.
- Rao C. R. M., Sahuquillo A. y López-Sánchez J. (2008). A review of the different methods applied in environmental geochemistry for single and sequential extraction of trace elements in soils and related materials. *Water Air Soil Pollut.* 189, 291-333.
- Rauret G., López-Sánchez J. F., Sahuquillo A., Barahona E., Lachica M., Ure A.M., Davison C.M., Gomez A., Lück D., Bacon J., Yli-Halla M., Muntau H. y Quevauviller Ph. (2000). Application of a modified BCR sequential extraction (three-step) procedure for the determination of extractable trace metal contents in sewage sludge amended soil reference material (CRM 483), complemented by a three-year stability study of acetic acid and EDTA extractable metal content. *J. Environ. Monit.* 2, 228-233.
- SEMARNAT (2000). Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Diario Oficial de la Federación. 31 de Diciembre de 2002.
- Sparks D. L. (2003). *Environmental soil chemistry*. Academic Press, San Diego, 352 pp.
- Strawn D. G. y Sparks D. L. (2000). Effect of soil organic matter on the kinetics and mechanisms of Pb (II) sorption and desorption in soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64, 144-156.
- USEPA (1996). Method 3050B Acid digestion of sediments, sludges and soils, Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical/Chemical Methods (SW-846). Office of Solid Waste. United States Environmental Protection Agency. Manual. Washington, DC. 12 pp.
- Walter I., Martínez F., Alonso L., de Gracia J. y Cuevas G. (2002). Extractable soil heavy metals following the cessation of biosolids applications to agricultural soil. *Environ. Pollut.* 117, 315-321.
- WRB (2008). Base Referencial Mundial del Recurso Suelo. Primera actualización 2006. Informes Sobre Recursos Mundiales de Suelos No. 103. FAO. Roma.