

Trabajo Fin de Grado

Grado en Ciencias Ambientales

Estudio de la eficacia del uso de quelantes
(EDTA) para el lavado de un suelo calizo
contaminado con plomo.

Study of the effectiveness of the use of
chelators (EDTA) for washing a limestone soil
contaminated with lead.

Autora

Natalia Gonzalo Romero

Director/es

Oriol Ortiz Perpiñá
Raquel Zufiaurre Galarza

El Trabajo de Fin de Grado que presento para su exposición y defensa es original y todas las fuentes empleadas para su realización han sido debidamente citadas en el mismo.

A handwritten signature in black ink, consisting of a stylized 'A' followed by a horizontal line extending to the right.

Agradecimientos:

Quisiera expresar mi agradecimiento a mi madre y a mi familia por el inmenso apoyo que me ha dado durante todos estos años.

A mis directores Raquel y Oriol, por su esfuerzo, trabajo y paciencia, así como al personal técnico de laboratorio, Inmaculada Palacín y Begoña Portaña por su ayuda y compañía durante los largos días de laboratorio.

Índice de contenido

1. RESUMEN Y PALABRAS CLAVE / ABSTRACT AND KEYWORDS	6
2. INTRODUCCIÓN	8
2.1. El suelo y su degradación	8
2.2. Contaminación del suelo por metales pesados	9
2.3. Distribución de los metales en el suelo	12
2.4. Contaminación del suelo por plomo	14
2.5. Tratamientos de remediación de suelos contaminados por metales	16
2.6. Tratamiento de remediación por lavado asistido por EDTA	18
2.7. Objetivos	21
3. MATERIAL Y MÉTODOS	22
3.1. Diseño experimental	22
3.1.1. Muestreo de suelo, contaminación con Pb y maduración	24
3.1.2. Tratamiento del suelo con EDTA y lavado con agua en columnas de percolación	26
3.2. Procedimientos analíticos	31
3.2.1. Determinación del pH	31
3.2.2. Determinación de la conductividad eléctrica	32
3.2.3. Determinación de la materia orgánica	32
3.2.4. Determinación de la Capacidad de Intercambio Catiónico	33
3.2.5. Determinación de carbonatos	34
3.2.6. Determinación del contenido de Pb en suelos: total y fraccionado	35
3.2.7. Determinación del contenido de Pb en los lixiviados	39
3.2.8. Determinación de la granulometría	39
3.2.9. Capacidad de Retención de Agua	41
3.3. Análisis estadístico	42
4. RESULTADOS	43
4.1. Caracterización del suelo	43
4.1.1. Características generales	43
4.1.2. Fraccionamiento y contenido total de Pb en el suelo antes del lavado	44
4.2. Análisis de lixiviados y suelos después del proceso de lavado	47
4.2.1. Valores de pH y CE en los lixiviados y suelos	47
4.2.2. Concentración de Pb en los lixiviados	48
4.2.3. Cantidad de Pb extraído en base al lixiviado	49
4.2.4. Fraccionamiento y contenido total de Pb en el suelo tras el lavado	54
4.2.5. Variación con el lavado de la distribución de Pb en las fracciones del suelo	56
4.2.6. Cantidad de Pb extraído en base a los análisis del suelo	58
5. DISCUSIÓN	62
5.1. El suelo objeto de estudio	62
5.2. El uso del EDTA como facilitador del lavado	65
5.3. La eficacia del tratamiento con EDTA en el lavado de Pb	66
5.4. El suelo lavado	71
5.5. Valoración global del tratamiento	72
6. CONCLUSIONES	74
7. REFERENCIAS	76

Índice de figuras

Figura 1. Dinámica de los metales pesados en los suelos. Elaboración propia. Basado en Alloway, (1995) y Jiménez, (2017).....	12
Figura 2. Reacción del Pb^{2+} con el EDTA-2Na. Extraído de Deng, (2020).....	17
Figura 3. pH mínimo para la formación de complejos con el EDTA. Extraído de Christian, (2010).....	18
Figura 4. Proceso de lavado <i>ex situ</i> del suelo en pila/columna. Extraído de Lestan et al., (2008).....	19
Figura 5. Diagrama del diseño experimental y del procedimiento operativo. Elaboración propia.....	24
Figura 6. Muestreo del suelo en la zona del Pinar (IES Pirámide, Huesca).....	25
Figura 7. Contenedores de polietileno con 100 g de suelo.....	25
Figura 8. Diagrama del proceso de lavado del suelo. Elaboración propia.....	27
Figura 9. Cantidad acumulada de Pb extraído (mg Pb) en función del volumen añadido de agua destilada (mL) en la prueba de lavado con 1 mmol EDTA kg para el nivel de contaminación bajo (1250 mg kg^{-1}).....	28
Figura 10. Cantidad acumulada de Pb extraído (mg Pb) en función del volumen añadido de agua destilada (mL) en la prueba de lavado con 10 mmol EDTA kg para el nivel de contaminación alto (2500 mg kg^{-1}).....	29
Figura 11. Columna de percolación con suelo y recogida de lixiviados.....	30
Figura 12. Diagrama del método extracciones secuenciales de Tessier.....	36
Figura 13. Clasificación granulométrica USDA. Extraído de Soil Science Division Staff, (2017).....	39
Figura 14. Diagrama triangular para determinar la clase textural USDA. Extraído de Soil Science Division Staff, (2017).....	41

Figura 15. Distribución de Pb (%) en las fracciones en función del nivel de contaminación y dosis de EDTA que se añadirán en el lavado. F1: Intercambiable; F2: Carbonatos; F3: Óxidos de Fe-Mn; F4: MO; F5: Residual.....	46
Figura 16. Concentración de Pb extraído (mg kg ⁻¹) según los datos del lixiviado y análisis de la varianza para las distintas dosis de EDTA añadida y para cada nivel de contaminación. Se adjunta para cada análisis el valor de P correspondiente. Para un mismo nivel de contaminación, las letras distintas indican la existencia de diferencias significativas entre dosis de EDTA.....	50
Figura 17. Distribución del Pb extraído (%) según los datos del lixiviado y análisis de la varianza para las distintas dosis de EDTA añadida y para cada nivel de contaminación. Se adjunta para cada análisis el valor P correspondiente. Para un mismo nivel de contaminación, las letras distintas indican la existencia de diferencias significativas entre dosis de EDTA.....	52
Figura 18. Resultados del análisis de regresión lineal entre % Pb extraído según el lixiviado y dosis de EDTA (0,1,5 y 10 mmol kg ⁻¹) para el nivel de contaminación C1 y C2.....	53
Figura 19. Comparación del Pb (mg kg ⁻¹) antes y después del lavado para cada una de las fracciones en función del tratamiento de EDTA empleado.....	57
Figura 20. Resultados del análisis de regresión lineal entre % Pb extraído según las fracciones y dosis de EDTA (0,1,5 y 10 mmol kg ⁻¹) para el nivel de contaminación C1 y C2.....	60
Figura 21. Comparación del porcentaje de Pb extraído del suelo calculado a partir de las concentraciones en los lixiviados y a partir de las diferencias de concentraciones en el suelo antes y después del lavado. La recta de regresión ($y = 0,91 + 1,37x$) presenta un valor R ² de 0,96.....	69

Índice de tablas

Tabla 1. Niveles Genéricos de Referencia para metales pesados en suelos de Aragón según el uso del suelo (B.O.A. nº75, 2008).....	11
Tabla 2. Diseño experimental: contaminación suelos con Pb y tratamientos con EDTA usadas en este trabajo. Para cada una de las combinaciones individuales se prepararon dos contenedores de polietileno con 100 g de tierra fina.....	22
Tabla 3. Características físico-químicas del suelo contaminado (media \pm desviación estándar).....	43
Tabla 4. Concentración de Pb (mg kg^{-1}) en las 5 fracciones del suelo antes del lavado, según el método de extracciones secuenciales de Tessier (media \pm desviación estándar, $n=2$) y contenido total de Pb.....	45
Tabla 5. Distribución del Pb (%) por fracciones y análisis de la varianza en función del nivel de contaminación antes del lavado, en filas, y del efecto del nivel de contaminación sobre cada fracción, en columnas. Se adjunta para cada análisis el valor P correspondiente. Para un mismo nivel de contaminación, las letras distintas indican la existencia de diferencias significativas entre fracciones.....	46
Tabla 6. Valores de pH y CE de los lixiviados, en función del nivel de contaminación y de la dosis de EDTA, y resultados de los ANOVA de la medida del pH y CE (dS m^{-1}) de los lixiviados según la dosis de EDTA para cada nivel de contaminación. Se adjunta para cada análisis el valor de P correspondiente. Para un mismo nivel de contaminación, las letras distintas indican la existencia de diferencias significativas entre dosis de EDTA. (media \pm desviación estándar, $n=2$).....	47
Tabla 7. Valores de pH y CE de los suelos antes y después del proceso de lavado, y resultados ANOVA de la medida del pH y CE (dS m^{-1}) del suelo antes y después del lavado según la dosis de EDTA para cada nivel de contaminación. Se adjunta para cada análisis el valor de P correspondiente. Para un mismo nivel de contaminación, las letras distintas indican la existencia de diferencias significativas entre dosis de EDTA. (media \pm desviación estándar, $n=2$).....	48
Tabla 8. Concentración de Pb (mg L^{-1}) en el lixiviado según tratamiento empleado para cada nivel de contaminación (media \pm desviación estándar, $n=2$).....	49
Tabla 9. Coeficientes correlación (Pearson) entre dosis de EDTA, CE, pH y concentración de Pb (mg L^{-1}) en los lixiviados según el nivel de contaminación.....	49

Tabla 10. Concentración de Pb (mg kg^{-1}) y análisis de la varianza de las fracciones en función del tratamiento después del lavado. Se adjunta para cada análisis el valor de P correspondiente. Para un mismo tratamiento (filas), las letras minúsculas distintas indican la existencia de diferencias significativas entre fracciones. Para una misma fracción (columnas) las letras mayúsculas distintas indican la existencia de diferencias significativas entre dosis de EDTA. La concentración total de Pb se muestra también en mg kg^{-1}	54
Tabla 11. Distribución del Pb (%) por fracciones y análisis de la varianza en función del nivel de contaminación después del lavado. Se adjunta para cada análisis el valor de P correspondiente. Para un mismo tratamiento (filas), las letras minúsculas distintas indican la existencia de diferencias significativas entre fracciones. Para una misma fracción (columnas) las letras mayúsculas distintas indican la existencia de diferencias significativas entre dosis de EDTA....	55
Tabla 12. Concentración de Pb extraído (mg kg^{-1}) y análisis de la varianza según la dosis empleada de EDTA y para cada nivel de contaminación. Se adjunta para cada análisis el valor de P correspondiente. Para un mismo nivel de contaminación, las letras distintas indican la existencia de diferencias significativas entre dosis de EDTA.....	58
Tabla 13. Contenido porcentual de Pb extraído y análisis de la varianza según la dosis empleada de EDTA y para cada nivel de contaminación. Se adjunta para cada análisis el valor de P correspondiente. Para un mismo nivel de contaminación, las letras distintas indican la existencia de diferencias significativas entre dosis de EDTA.....	59
Tabla 14. Cambio porcentual en el contenido de Pb en cada una de las fracciones como consecuencia del lavado y análisis de la varianza de los resultados obtenidos por cada una de las fracciones según la dosis empleada de EDTA. Se adjunta para cada análisis el valor de P correspondiente. Para una misma fracción, las letras distintas indican la existencia de diferencias significativas entre dosis de EDTA.....	61
Tabla 15. Relación entre el Pb extraído del suelo, calculado a partir de la diferencia de concentraciones en el suelo, antes y después del lavado, y el Pb extraíble con cada dosis de EDTA.....	68

1. RESUMEN Y PALABRAS CLAVE / ABSTRACT AND KEYWORDS

Estudio de la eficacia del uso de quelantes (EDTA) para el lavado de un suelo calizo contaminado con plomo.

RESUMEN

La contaminación del suelo por metales pesados es un grave problema, ya que estos se acumulan, comprometiendo su funcionalidad, siendo el plomo uno de los más representativos de la contaminación de origen urbano e industrial.

El lavado de suelos con agentes quelantes ha sido considerado como una de las técnicas de remediación que reduce considerablemente la concentración de estos en los suelos. El EDTA es el quelante más empleado y documentado ya que es el que más eficacia ha mostrado en suelos calizos.

Se ha estudiado la eficacia del lavado en columna con EDTA, en un suelo calcáreo de Huesca contaminado artificialmente con Pb (1250 y 2500 mg Pb kg⁻¹), empleando varias dosis del quelante (1, 5 y 10 mmol EDTA kg⁻¹), y se ha determinado qué fracciones del Pb eran las más susceptibles de ser lavadas.

El tratamiento de lavado asistido por EDTA del suelo fue bastante eficaz empleando dosis medias-altas para el suelo contaminado con 1250 mg Pb kg⁻¹ y dosis altas para 2500 mg Pb kg⁻¹. Los resultados también revelaron que el Pb se extraía en su mayor parte de la fracción asociada a los carbonatos, que era la fracción mayoritaria en los suelos contaminados.

La solubilización facilitada por el uso del EDTA sugiere que podría ser un gran aliado en el tratamiento de suelos mediante fitoextracción.

PALABRAS CLAVE: EDTA, distribución, fraccionamiento, lavado del suelo, plomo, suelo calcáreo

Study of the effectiveness of the use of chelators (EDTA) for washing a limestone soil contaminated with lead.

ABSTRACT

Contamination of the soil by heavy metals is a severe problem, since these tend to accumulate, compromising their functionality, being lead one of the most representative of pollution of urban and industrial origin.

Soil washing with chelating agents has been considered as one of the remediation techniques that considerably reduces the concentration of these in soils. EDTA is the most used and documented chelator since it is the one that has shown the most effectiveness in limestone soils.

It has studied the effectiveness of column washing with EDTA, in a calcareous soil of Huesca artificially contaminated with Pb (1250 and 2500 mg Pb kg⁻¹), using several doses of the chelator (1, 5 and 10 mmol EDTA kg⁻¹), and it has been determined which fractions of Pb were the most susceptible to be washed.

EDTA-assisted washing treatment of the soil was quite effective using medium-high doses for soil contaminated with 1250 mg Pb kg⁻¹ and high doses for 2500 mg Pb kg⁻¹. The results also revealed that Pb was extracted mostly from the fraction associated with carbonates, which was the majority fraction in contaminated soils.

The solubilization facilitated by the use of EDTA suggests that it could be a great ally in the treatment of soils through phytoextraction.

KEYWORDS: calcareous soil, distribution, EDTA, fractionation, lead, soil washing

2. INTRODUCCIÓN

2.1. *El suelo y su degradación.*

El suelo constituye uno de los recursos naturales más importantes que existen, pues regula los flujos de energía y materia entre la atmósfera, hidrosfera y biosfera. Además, es el soporte de la vida y realiza multitud de funciones esenciales de carácter ambiental, económico, social y cultural. Entre estas funciones podemos destacar su capacidad de proporcionar agua, nutrientes y soporte para la producción vegetal; su función de barrera protectora natural para otros medios más sensibles al poder filtrar, almacenar, degradar, neutralizar e inmovilizar sustancias tóxicas; como componente esencial del ciclo hidrológico y como soporte para el desarrollo de actividades humanas (Blum, 2005). Este se forma a partir del material parental que, bajo ciertas condiciones bióticas, climáticas, geomorfológicas y temporales, se va alterando química y físicamente formándose horizontes diferenciados entre sí (Jiménez., 2017; Blum, 2020. La gran diferencia en la escala temporal en la que se desarrollan los procesos de formación, muy lentos, y en la que se produce su degradación, muy rápida, lo convierte, además, en un recurso natural no renovable a escala humana (Lal et al., 1989; Oldeman, 1992; Lal, 2015).

No obstante, el suelo puede degradarse por la acción humana, dejando así de cumplir algunas de sus funciones (Blum, 2008). Los procesos de degradación pueden ser de naturaleza física, química o biológica (Oldeman, 1992), y la contaminación del suelo puede entenderse como una degradación química del mismo por el aporte de compuestos orgánicos o inorgánicos introducidos de manera exógena (Jiménez, 2017), normalmente antropogénica, y que causa un daño al sistema.

Uno de los principales problemas relacionados con estos procesos es que el suelo es capaz de inmovilizar e inactivar cantidades importantes de contaminantes, de modo que cuando la concentración de uno o varios contaminantes supera un valor crítico, su poder de depuración deja de ser efectivo y comienza a funcionar como fuente de contaminantes (Warfvinge & Sverdrup, 1992; Durães et al, 2018) y a afectar a los organismos edáficos.

La capacidad depuradora de un suelo va a depender de las propiedades del suelo como su contenido en materia orgánica, carbonatos y oxihidróxidos de Fe y Mn, de la capacidad de intercambio catiónico, del contenido y tipo de arcillas, del pH, la textura, etc. (Galán & Romero, 2008).

2.2. Contaminación del suelo por metales pesados.

Se ha estimado que pueden existir hasta 2.500.000 de suelos potencialmente contaminados en toda la Unión Europea, siendo aproximadamente 340.000 de estos sitios los que requieren remediación, siendo gran parte de estos suelos portadores de cantidades variables de metales pesados introducidos en el suelo por actividades antropogénicas (*Soil Contamination Widespread in Europe*, 2020).

Se consideran “metales pesados” aquellos elementos metálicos con peso atómico superior a 55,85 g mol⁻¹. Sin embargo, esta definición excluye a numerosos metales con peso atómico inferior, como el Mn o el Cr, que con frecuencia pueden actuar como contaminantes y otros elementos contaminantes que no son metales como el As, F y P. Por ello es más correcto hablar de “elementos traza” como sugiere Galán Huertos y Romero Baena (2008).

El término “elemento traza” se refiere a aquellos metales o metaloides, que comúnmente generan problemas de contaminación ambiental, sea cual sea su densidad, y que están presentes en la corteza terrestre y los sistemas naturales en concentraciones relativamente bajas (mg kg⁻¹). Algunos de ellos pueden ser esenciales para los organismos vivos, sin embargo, en concentraciones demasiado elevadas predominan sus efectos tóxicos, como en el caso del Fe, Mn, Zn, B, Co, As, Mo, Cu, Ni o V. Para otros metales, como el Pb, Hg o Cd, no se les ha identificado ningún papel biológico, y resultan extremadamente tóxicos (Jiménez, 2017).

La presencia de elementos traza en el suelo puede deberse a factores geogénicos o antropogénicos (Bañuelos & Ajwa, 1999; Senesil et al., 1999; Charlesworth et al., 2011). Los primeros pueden proceder de su liberación al suelo a través de procesos mecánicos, químicos o biológicos de meteorización del material parental; también pueden proceder de emisiones volcánicas y lixiviados de mineralizaciones.

Sin embargo, la causa principal de la presencia de concentraciones elevadas de metales traza en los suelos se debe a ciertas actividades humanas (Galán & Romero, 2008).

El aumento de la concentración de metales pesados en el suelo por encima de su carga crítica, que marca el umbral de toxicidad, puede afectar negativamente a un gran número de organismos edáficos, pudiendo llegar a provocar una reducción de la diversidad de la flora y la fauna (Giller et al., 1998; Huamain et al., 1999; Sethy & Ghosh, 2013; Gall et al., 2015; Jaiswal et al., 2018). Esta pérdida puede desencadenar procesos

de degradación del suelo como la pérdida de materia orgánica, erosión y en su último estadio, la desertificación de la zona afectada.

En España, el Real Decreto 9/2005, de 14 de enero (B.O.E nº 15, 2005) establece el concepto de Nivel Genérico de Referencia (NGR), que se define como la concentración de una sustancia contaminante en el suelo que no conlleva un riesgo superior al máximo aceptable para la salud humana o para los ecosistemas. Para establecer los NGR, es necesario determinar en primer lugar los niveles de fondo de los suelos, es decir, las concentraciones de metales existentes en suelos no contaminados. Los valores NGR proporcionan criterios para declarar un suelo como contaminado, potencialmente contaminado o no contaminado (Jiménez, 2017). La legislación obliga a la realización de las actuaciones que sean necesarias para descontaminar y recuperar un suelo declarado como contaminado (B.O.E nº 85, 2022).

La legislación establece que cada Comunidad Autónoma debe establecer sus NGR, que, en Aragón, se publicaron a través de la ORDEN de 5 de mayo de 2008 (Tabla 1). Los NGR se establecen en función del uso del suelo, ya que las vías de exposición de los organismos vivos a los elementos y sustancias potencialmente tóxicas varían en función del tipo de uso.

Tabla 1. Niveles Genéricos de Referencia para metales pesados en suelos de Aragón según el uso del suelo (B.O.A. nº75, 2008).

Elemento	Industrial (mg kg ⁻¹)	Área de juego infantil (mg kg ⁻¹)	Urbano (mg kg ⁻¹)	Otros usos del suelo (mg kg ⁻¹)	VR 90 (mg kg ⁻¹)
Aluminio	10000c	10000c	10000c	8185a	8185
Antimonio	300b	30	30	3a	3
Arsénico	260b	26a	26a	26a	26
Bario	10000c	8900b	8900b	890b	890
Berilio	10b	1	1	0,8	
Cadmio	100b	10b	10b	1	0,4
Cobalto	1500b	150b	1500b	15a	15
Cobre	2800b	280b	280b	28a	28
Cromo (III)	10000c	10000b	10000c	1000	80
Cromo (VI)	2300b	200	230	80a	80
Estaño	10000c	10000c	10000c	3185	4
Hierro	10000c	10000c	10000c	3750a	3750
Manganeso	10000c	3100	3390	71a	715
Mercurio	250b	20	25	0,36	0,06
Molibdeno	300b	30b	30b	3	3
níquel	4000b	400b	400b	40	40
Plata	100b	10b	10b	1	0,97
Plomo	2700b	270	270	45	36
Selenio	2700b	200b	200b	20	3
Talio	20b	0,5	2	0,08	
Torio	18	18	18	18	17
Uranio	450b	45	45	7a	7
Vanadio	10000b	1000b	1000b	100a	100
Zinc	10000c	4200b	4200b	420	130

a VR 90 del elemento

b en aplicación del criterio de contigüidad

c en aplicación de criterio de reducción

La normativa establece los NGR en función de la concentración total del metal en el suelo. Sin embargo, esta manera de proceder resulta poco informativa sobre la posible toxicidad del metal, ya que no contempla las formas químicas del metal y su distribución en las distintas fracciones del suelo y cómo condiciona esto a su disponibilidad a corto (formas solubles o lábiles) o a largo plazo (cambios en las condiciones del suelo).

Por ello es fundamental conocer la forma química en la que se presenta un metal en el suelo, también llamado especiación, ya que de ésta va a depender la disponibilidad del

metal y por tanto el riesgo que puede suponer para el medio ambiente y la salud humana (Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía, 1999).

2.3. Distribución de los metales en el suelo.

La especiación y la disponibilidad de los metales en el suelo van a estar influenciados por factores climáticos y características edáficas, pudiéndose distinguir las siguientes formas principales en las que se pueden encontrar (Figura 1): (1) iones solubles en la solución del suelo, los cuales son fácilmente disponibles; (2) iones intercambiables en el complejo de cambio, se encuentran relativamente disponibles debido a que quedan fuertemente adsorbidos; (3) formando complejos con la materia orgánica, son menos disponibles; (4) metales precipitados o coprecipitados, sólo están disponibles si ocurre una alteración química e (5) incorporados a la estructura mineral, disponibles sólo después de la meteorización (Jiménez, 2017; Kabata-Pendias, 1995; Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía, 1999).

Tessier et al. propusieron en 1979 un método secuencial de fraccionamiento de los metales pesados en suelos que contemplaba precisamente estas grandes fracciones (F1, intercambiable y soluble; F2, asociada a carbonatos; F3, asociada a óxidos de Fe/Mn; F4, asociada a materia orgánica; y F5, residual), por lo que el uso de este método de fraccionamiento secuencial parece una herramienta adecuada para valorar la movilidad de los elementos traza en suelos contaminados, en función de las formas en las que se encuentren (Frentiu et al., 2008).

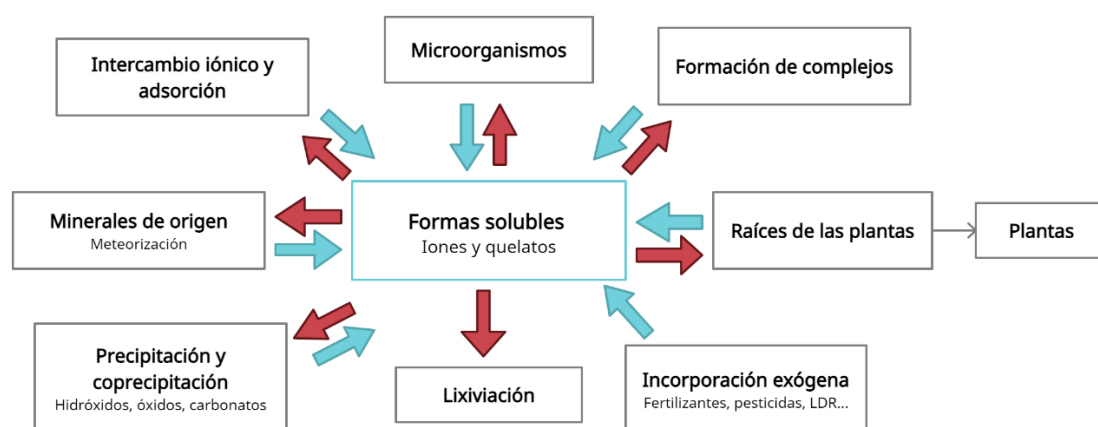


Figura 1. Dinámica de los metales pesados en los suelos. Elaboración propia. Basado en Alloway, (1995) y Jiménez, (2017).

La movilidad y disponibilidad de los metales pesados en el suelo, aunque es escasa debido a su fuerte retención en las distintas formas descritas anteriormente, está fuertemente asociada al pH del suelo. La mayoría de éstos tienden a estar más

disponibles en suelos con pH ácido, a excepción de As, Cr, Mo y Se (Galán & Romero, 2008). La capacidad de adsorción es mayor a pH básicos debido a su precipitación como hidróxidos, sin embargo, en medios muy alcalinos pueden volver a la solución como hidroxicomplejos (Jiménez, 2017).

La presencia de carbonatos en el suelo va a garantizar que el pH del suelo se mantenga elevado, además de retener los metales pesados (Galán & Romero, 2008). La adsorción de metales pesados por parte de los carbonatos depende del radio iónico del metal, ya que cuanto más parecido sea al del Ca^{2+} mayor será la eficacia de sorción, y también va a depender de la concentración de metal en el medio y de la solubilidad del complejo que se forme (Rábago, 2010).

El potencial de oxidación-reducción del metal también influirá en el comportamiento de este frente a un cambio en las condiciones ambientales del suelo (Galán & Romero, 2008), aumentando generalmente su movilidad al reducirse el potencial redox (Chuan et al., 1996).

En cuanto a la textura del suelo, la arcilla es capaz de retener los metales por adsorción en su superficie en posiciones de cambio debido a su carácter coloidal, por lo que suelos con un elevado contenido en arcillas van a retener e inmovilizar los metales con mayor eficacia (Usman et al., 2005; Li-qun et al., 2009). Los suelos arenosos tienen esta capacidad de retención mucho más limitada, por lo que los metales presentaran una mayor movilidad (Galán & Romero, 2008; Jiménez, 2017).

El tipo de minerales que compongan las arcilla va a influir sobre la capacidad de adsorción que presenten éstas (Parfitt et al., 1995; Pincus et al., 2017), siendo mínima para minerales del grupo de la caolinita, baja para las micas, alta para las esmectitas y máximo para las vermiculitas (Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía, 1999; Weil & Brady, 2017).

La materia orgánica, además de contribuir a la capacidad de intercambio catiónico del suelo, y por ello a la adsorción de elementos traza (Czikkely et al., 2018), presenta la capacidad de reaccionar con los metales para formar complejos organometálicos o quelatos solubles muy estables (Dhaliwal et al., 2019). La materia orgánica disuelta también tiene la capacidad de formar complejos organometálicos con los metales, pudiendo moverse así por el perfil edáfico incrementando su potencial tóxico (Rábago, 2010).

El poder de retención de Complejo de Intercambio Catiónico (CIC) va a depender de tipo y la cantidad de arcilla, la materia orgánica, el pH y de las características del metal. A mayor radio iónico hidratado y menor valencia, menos fuertemente van a quedar retenidos (Galán & Romero, 2008). A pH bajos los H^+ están fuertemente retenidos mientras que a pH altos se puede producir su intercambio por cationes. Por lo general cuanto mayor sea la CIC del suelo, mayor será la capacidad para adsorber metales (Jiménez, 2017). Además, los coloides de humus y arcilla presentes en el suelo pueden adsorber cationes en su superficie, ya que forman microagregados cargados negativamente (Larios, 2014).

Los óxidos e hidróxidos de Fe y Mn presentan una elevada capacidad de retención de metales pesados (Gadepalle et al., 2007). Estos presentan preferencia por adsorber metales divalentes como son el Cu y Pb y en menor extensión Co, Zn, Mo y Ni (Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía, 1999).

Un incremento en la salinidad del suelo puede ocasionar el aumento de la movilización de los metales (Du Laing et al., 2009; Acosta et al., 2011). Los cationes como Na^+ y K^+ pueden sustituir a los metales en el complejo de cambio, liberando estos y potenciando el riesgo de que aniones como el Cl^- y SO_4^{2-} se unan de forma estable con los metales (Galán & Romero, 2008).

Además de las propiedades fisicoquímicas, las plantas y microorganismos del suelo también juegan un importante papel en la dinámica de los metales a través de procesos de extracción, estabilización, bioacumulación, biomineralización y biotransformación (Jiménez, 2017).

El tiempo es otro factor que condiciona la distribución y estabilidad del metal en el suelo, ya que la antigüedad resulta clave a la hora de que el metal se sitúe en posiciones menos lábiles y dificulte los procesos de desorción (Rábago, 2010).

2.4. Contaminación de suelos por plomo.

El plomo se encuentra de forma natural en el suelo combinado con otros elementos como azufre (PbS , $PbSO_4$), carbono ($PbCO_3$) y cromo ($PbCrO_4$). Sin embargo, el Pb en su forma divalente es la forma más común y reactiva de todas, ya que es capaz de reemplazar Ca, Sr, Ba y K en el suelo. Este se puede encontrar en cantidades mayores en la superficie del suelo y la materia orgánica debido a que esta es capaz de adsorberlo (Mulligan et al., 2001).

Las concentraciones normales en un suelo no contaminado, procedentes esencialmente de la meteorización del material parental, es menor de 10 mg kg^{-1} para suelos calcáreos (Larios, 2014). En un estudio llevado a cabo por Navas y Machín en 2022 sobre 133 muestras de suelos naturales de Aragón, se encontraron unos valores medios de $5,9 \text{ mg kg}^{-1}$ de Pb, con un máximo de $146,0 \text{ mg kg}^{-1}$.

El Pb se considera el metal más representativo de contaminación urbana (Datko-Williams et al., 2014), ya que se ha ido acumulando en los suelos durante décadas debido a el empleo de gasolinas enriquecidas con Pb a partir de 1950 en forma de tetrametilplomo [$\text{Pb}(\text{CH}_3)_4$] y tetraetilplomo [$(\text{CH}_3\text{CH}_2)_4\text{Pb}$] (Wade et al., 2021). A pesar de que entre 2001 y 2002 se eliminó este combustible en la UE (Directiva Europea 98/70/CE, 1998), el Pb heredado de esos años aún perdura debido a su escasa movilidad en el perfil del suelo (Mielke et al., 2010; Kayhanian, 2012; Wade et al., 2021). Además, se ha visto incrementado por emisiones industriales derivadas de la fabricación de compuestos electrónicos (baterías), el empleo de ciertos pesticidas que contienen trazas como el arseniato de plomo ($\text{Pb}_3(\text{AsO}_4)_2$), empleo de lodos de depuradora como fertilizantes o actividades mineras (Jiménez, 2017).

Por ejemplo, en suelos próximos a carreteras se han llegado a encontrar concentraciones desde los 20 a 2000 mg kg^{-1} ; en suelos cercanos a industrias se han encontrado entre 300 y 60000 mg kg^{-1} ; en suelos afectados por vertidos procedentes de la minería entre 650 y 1572 mg kg^{-1} y en campos de tiro entre 4000 y 8300 mg kg^{-1} (Rábago, 2010).

La acumulación de excesivas cantidades de Pb en el suelo provoca alteraciones en la actividad biológica (Smejkalova et al., 2003; González-Mille et al., 2019), perturbando los procesos microbianos y acumulándose en la microflora y fauna edáfica (Rábago, 2010). Además, una vez absorbido por las raíces de las plantas, aunque suele permanecer prácticamente inmóvil (Saifullah et al., 2009), supone un peligro potencial para los herbívoros y otros organismos al incorporarse a la cadena trófica.

En los seres humanos, una exposición a este metal puede generar problemas neurológicos, renales, o del aparato reproductor e inmunológico, entre otros (Moreno, 2018).

La actual y futura demanda de suelo agrícola promovido por el continuo crecimiento demográfico incrementan la necesidad de tratamientos efectivos para eliminar metales pesados de suelos contaminados (Saifullah et al., 2009).

2.5. Tratamientos de remediación de suelos contaminados por metales.

Uno de los principales objetivos de la remediación del suelo es restaurar su funcionalidad, es decir, las funciones características del suelo en el medio natural (Cooke & Johnson, 2002; Muñoz-Rojas, 2018; Farrell et al., 2020). Para ello, existen numerosos tratamientos disponibles a la hora de restaurar un suelo contaminado por (Yao et al., 2012; Li et al., 2019; Bouida et al., 2022). Si el objetivo es contener el contaminante, existen técnicas como la encapsulación, vitrificación, aislamiento y creación de barreras permeables. Si el objetivo es reducir o eliminar la concentración del metal en el suelo, existen técnicas como la sustitución del suelo, fracturación neumática, extracción electrocinética, extracciones ácidas, tratamientos biológicos, lavado del suelo entre otros (Álvarez, 2019; Jiménez, 2017).

Uno de los tratamientos más prometedores y que implica una menor alteración del suelo es la fitorremediación. Este método se basa en la eliminación de los metales pesados mediante la absorción por parte de plantas y posterior traslocación a partes aéreas (Vaquero 2019, Sarriá, 2021). Sin embargo, la eficiencia de la fitoextracción depende de la cantidad del metal que se encuentre en las fracciones más solubles del suelo y que por regla general, suele estar en bajas concentraciones (Zhang et al., 2022). Es precisamente en este aspecto que el uso de quelantes como el EDTA puede contribuir a una mayor asimilación del metal. Para el caso del Pb, sin embargo, todavía no se han encontrado especies vegetales que sean hiperacumuladoras. En las especies estudiadas hasta la fecha, una vez que el Pb presente en solución es absorbido por las raíces de la planta, este se mantiene inmóvil ya que presenta una limitada translocación al resto de la planta (Meers et al., 2009).

Algunas especies de plantas acumuladoras que se emplean en estudios de fitoextracción son *Brassica juncea*, (Vaquero, 2019; Turan & Esringü, 2007; Figueroa, 2014), *Brassica napus* (Turan & Esringü, 2007; Figueroa, 2014), *Sesbania cannabina*, *Geniata pennelliana* (Figueroa, 2014).

Numerosos estudios son los que emplean agentes quelantes en tratamientos de fitoextracción para favorecer la solubilidad de los metales pesados y así fomentar la extracción de estos por las plantas. Se suelen aplicar al suelo en el momento de máximo crecimiento de la planta para garantizar un volumen de biomasa considerable y facilitar la absorción de metales antes de la recolección o cosecha (Vaquero, 2019). Uno de los reactivos más estudiados y empleados es el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA),

capaz de formar complejos muy estables con metales en un amplio rango de pH (Saifullah et al., 2009; Zhang, 2009; Oviedo & Rodríguez, 2003).

El EDTA ($[\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H})_2]_2$) es un agente quelante que pertenece a la familia de los ácidos poliaminocarboxílicos, contiene cuatro grupos carboxilo y dos grupos amino con seis posibles posiciones de enlace (ligando hexadentado) (Christian, 2010). Normalmente, se suele utilizar la sal disódica del ácido ($\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_{10}$) como reactivo extractante. El EDTA se produce a gran escala para su uso en fertilizantes y detergentes industriales, lo que explica su presencia en el medio natural (Kaurin et al., 2020), llegándose a encontrar concentraciones en torno a 1 mg L^{-1} en aguas superficiales europeas (Oviedo & Rodríguez, 2003).

El EDTA es capaz de reaccionar y crear complejos fuertes de estequiometría 1:1 con la mayoría de los metales (López-Martínez, 2016) formando quelatos solubles en agua (Figura 2).

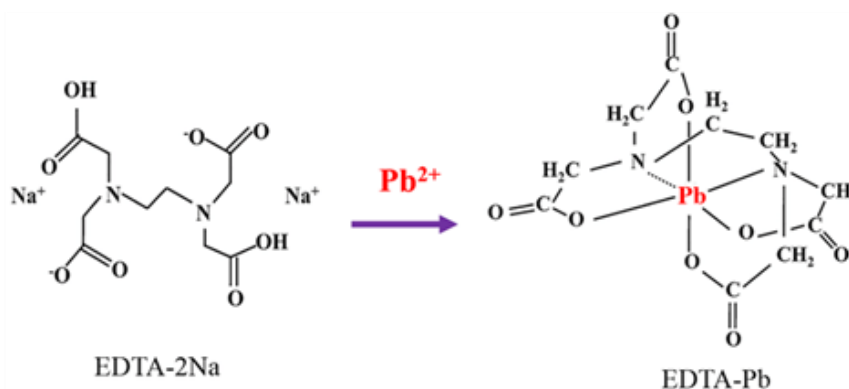


Figura 2. Reacción del Pb^{2+} con el EDTA-2Na. Extraído de Deng, (2020).

La constante de formación del quelato determinará la estabilidad del mismo, el cual depende del radio iónico del metal y del pH del medio (Figura 2). Así, la constante de formación Pb-EDTA es muy elevada ($K_f = 18,04$), originando complejos muy estables a partir de pH de 3,5 (Figura 3).

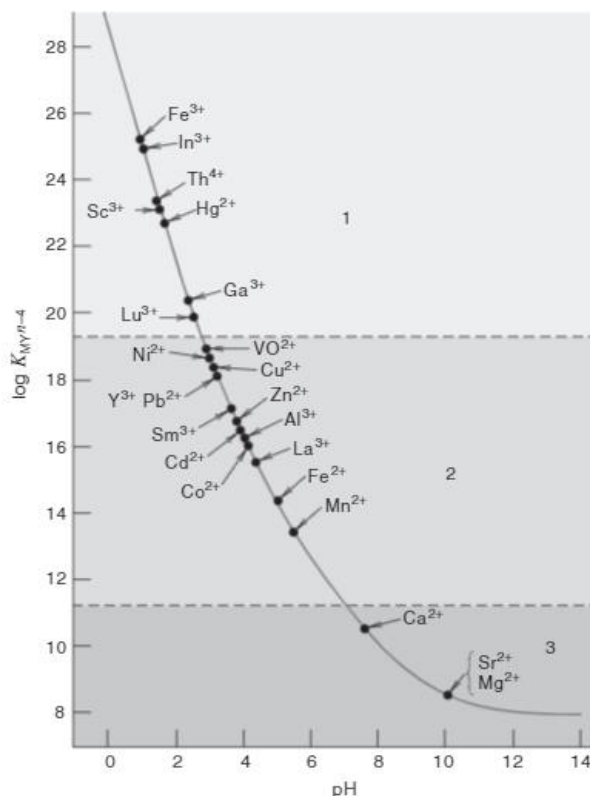


Figura 3. pH mínimo para la formación de complejos con el EDTA. Extraído de Christian, (2010).

2.6. Tratamiento de remediación por lavado asistido por EDTA.

Otro tratamiento bastante prometedor y relativamente común es el lavado de suelos, que consiste básicamente en la separación de los metales del suelo a través de su solubilización mediante una disolución de lavado (Peters, 1999). Esta disolución puede estar conformada por agua, sales ($CaCl_2$, $NaCl$), ácidos fuertes (HCl , HNO_3 , H_2SO_4), agentes quelantes (EDTA, NTA, DTPA entre otros) o surfactantes (Qiao et al., 2017; Dermont et al., 2008).

Este tipo de tratamientos se puede llevar a cabo *in situ*, denominado “flushing”, en el cual la solución extractante es inyectada directamente o rociada mediante aspersores en el suelo u otros dispositivos y el lixiviado es extraído del suelo empleando drenajes horizontales o pozos de recuperación (Lestan et al., 2008; Mulligan et al., 2001).

Este método resulta más económico y no altera la estructura del suelo al no tener que extraer el suelo a tratar. Sin embargo, solo es aplicable en casos concretos donde la zona contaminada este rodeada por material no permeable como pueden ser suelos arenosos sobre arcillas o sobre roca compacta. Además, esta técnica puede incrementar el riesgo de contaminación de zonas adyacentes debido a la dificultad en el control de los contaminantes movilizados, que puede llegar a generar problemas de

contaminación de aguas por lixiviación de metales (Lestan et al. 2008) y por la adición de quelantes no biodegradables (Saifullah et al., 2009).

El tratamiento de lavado generalmente se realiza *ex situ*. En este método, se distinguen dos modos en los que se puede tratar el suelo: extracción en reactores y extracción en pila o columna. En la extracción de pila o columna el suelo retirado es preparado inicialmente para eliminar la grava de la fracción más fina. A continuación, se hace pasar por gravedad una solución quelante a través del suelo en la columna o pila para eliminar los metales pesados y la disolución recolectada se procesa para eliminar dichos metales (Figura 4) (Lestan et al. 2008).

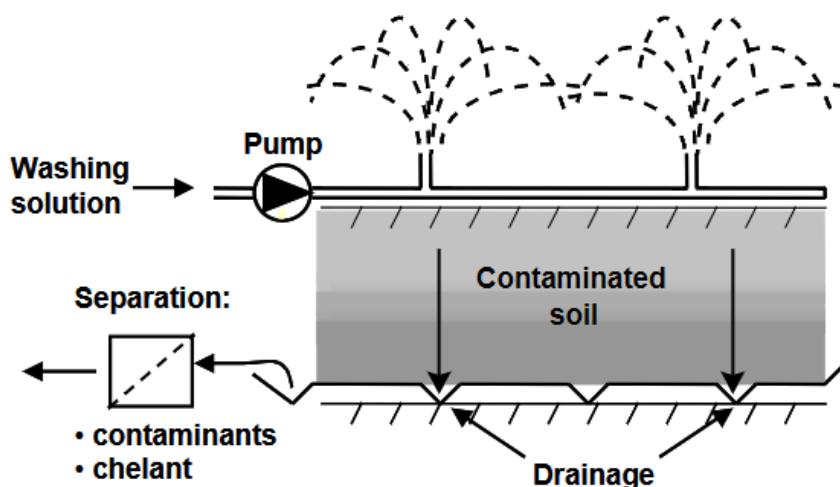


Figura 4. Proceso de lavado *ex situ* del suelo en pila/columna. Extraído de Lestan et al., (2008)

Para el caso del Pb, el lavado con agua es poco eficaz por la generalmente escasa proporción de Pb en la disolución del suelo, y el uso de ácidos, aunque muy eficaz por la elevada solubilidad del Pb en disolución ácida, genera una importante perturbación a nivel físico, químico y biológico, por las elevadas cantidades a las que debe ser usado por la neutralización de los carbonatos. El lavado de suelos con agentes quelantes es capaz de eliminar de forma bastante eficiente la parte móvil y disponible de metales presentes en el suelo, quedando únicamente una pequeña parte residual en forma no lábil la cual es menos tóxica o no tóxica (Udovic & Lestan, 2010).

Entre los agentes quelantes que se han comprobado que son capaces de solubilizar y eliminar Pb del suelo están el pentaacetato de dietilentriamina (DTPA) (Zhao et al., 2015), ácido nitrilotriacético (NTA) (Elliott & Brown, 1989), ácido etilendiamin- *N, N'*-disuccínico (EDDS) (Kos & Lestan, 2003), diacetato de glutamato tetrasódico (GLDA) (Kaurin et al., 2020), entre otros.

Sin embargo, numerosos estudios confirman que, de los agentes quelantes existentes que son capaces de solubilizar Pb, el EDTA es uno de los más eficaces para el lavado de suelos, además de su bajo impacto sobre la actividad microbiana y facilidad de recuperación tras su uso en comparación con otros agentes (Qiao et al., 2017; Hu et al., 2014; Udovic & Lestan, 2012). Además, su elevada producción, lo convierte en la mejor opción en relación coste/tratamiento. La eficacia de la extracción depende de la combinación de múltiples factores como la labilidad del metal, la concentración de EDTA, el pH y las propiedades de la matriz del suelo (Finžgar & Lestan, 2007).

Aunque la extracción de Pb por lavado del suelo ha sido ampliamente estudiada y documentada sobre todo en suelos calcáreos (Papassiopi et al., 1997; Udovic & Lestan, 2012; Zhang et al, 2012), el comportamiento del Pb y eficiencia del tratamiento en suelos calizos en Aragón no ha sido estudiado y es por eso el objetivo principal de este trabajo.

Este objetivo sigue la línea de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) propuestos por las Naciones Unidas, más concretamente con el *Objetivo 15: Gestionar sosteniblemente los bosques, luchar contra la desertificación, detener e invertir la degradación de las tierras, detener la pérdida de biodiversidad*. Las metas con las que se relaciona el trabajo son las siguientes:

- 15.1 Velar por la conservación, el restablecimiento y el uso sostenible de los ecosistemas terrestres y los ecosistemas interiores de agua dulce y los servicios que proporcionan, en particular los bosques, los humedales, las montañas y las zonas áridas, en consonancia con las obligaciones contraídas en virtud de acuerdos internacionales.
- 15.3 Luchar contra la desertificación, rehabilitar las tierras y los suelos degradados, incluidas las tierras afectadas por la desertificación, la sequía y las inundaciones, y procurar lograr un mundo con una degradación neutra del suelo.

2.7. Objetivos.

El objetivo general de este Trabajo de Fin de Grado se centra en evaluar la eficacia del uso de EDTA para la extracción por lavado de plomo en un suelo calizo contaminado.

Para alcanzar el objetivo general planteado, se proponen los siguientes objetivos específicos:

1. Estudiar cómo se distribuye el Pb en diferentes fracciones de un suelo calizo contaminado artificialmente y envejecido en condiciones de laboratorio.
2. Medir la cantidad de Pb lixiviable con agua y con disoluciones de distinta concentración de la sal disódica de EDTA.
3. Evaluar, a partir del fraccionamiento del Pb en el suelo lavado, qué fracciones son las más afectadas por el uso del quelante EDTA, y si ello depende de la dosis utilizada.
4. Valorar la eficacia de la descontaminación del suelo por lavado mediante EDTA.
5. Valorar la posibilidad de emplear el EDTA también como un paso previo a la fitorremediación.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Diseño experimental.

Para la realización de este ensayo se ha empleado el horizonte Ah de un Haplic Calcisol (WRB, 2022) de una zona próxima a la Escuela Politécnica Superior para contaminarlo artificialmente con dos dosis diferentes de Pb. Tras un periodo de envejecimiento del suelo, se realizaron ensayos de lavado en columnas de percolación mediante la adición de cuatro dosificaciones distintas de la sal disódica del EDTA (ácido etilendiamino tetraacético), lo que configuró un total de 8 tratamientos experimentales básicos (2 dosis de Pb x 4 dosis de EDTA), que fueron duplicados. Se conformaron 16 muestras individuales en contenedores con la misma cantidad de suelo (Tabla 2).

Tabla 2. Diseño experimental: contaminación suelos con Pb y tratamientos con EDTA usadas en este trabajo. Para cada una de las combinaciones individuales se prepararon dos contenedores de polietileno con 100 g de tierra fina.

Dosis Pb (mg kg ⁻¹)	Dosis EDTA (mmol kg ⁻¹)	Tratamiento	Contenedor
1250	0	C1.0	1,2
	1	C1.1	3,4
	5	C1.5	5,6
	10	C1.10	7,8
2500	0	C2.0	9,10
	1	C2.1	11,12
	5	C2.5	13,14
	10	C2.10	15,16

Se seleccionaron dos niveles de plomo en base a los niveles genéricos de referencia (NGR) de la Comunidad Autónoma de Aragón para suelos contaminados de uso industrial (ORDEN de 5 de mayo de 2008): para el caso del Pb 2500 mg kg⁻¹ representando a los suelos fuertemente contaminados (C2) y la mitad de esta concentración, 1250 mg kg⁻¹, para representar los suelos moderadamente contaminados (C1). Cabe destacar que estas concentraciones están muy por encima de las señaladas para áreas de juego infantil y suelo urbano (270 mg kg⁻¹), y también de la categoría de otros usos del suelo (45 mg kg⁻¹), que incluye su aprovechamiento agronómico, y son del orden de magnitud establecido para usos industriales del suelo (2700 mg kg⁻¹).

Una vez colocado el suelo en los 16 contenedores de polietileno (100 g), el Pb se incorporó mediante disoluciones de PbNO₃, de tal forma que se alcanzaran las concentraciones nominales establecidas.

Tras la contaminación, las muestras pasaron un proceso de maduración de aproximadamente dos meses con el objetivo de facilitar la redistribución del Pb por el interior del suelo y su interacción con sus componentes. Tras ello se procedió a su análisis para caracterizar el suelo antes del proceso de lavado.

Para el proceso de lavado, se prepararon las columnas de lixiviación sobre las que se va a desarrollar la base del experimento. Se añadieron las dosis pertinentes de EDTA y se hizo pasar una cantidad previamente establecida de agua destilada para eliminar del suelo el Pb solubilizado por el EDTA y se recogió el lixiviado para su análisis.

Después del lavado, se recuperaron las muestras de suelo de las columnas y se dejaron secar al aire para la posterior determinación de la cantidad y distribución del Pb que había tras el lavado.

En el diagrama mostrado en la Figura 5 se muestra a modo de resumen los procedimientos seguidos durante todo el experimento.

Los análisis realizados sobre el suelo y los lixiviados conllevan las siguientes determinaciones:

- Caracterización inicial del suelo: pH, conductividad eléctrica (CE), materia orgánica (MO), capacidad de intercambio catiónico (CIC), carbonatos, granulometría y capacidad retención de agua (CRA).
- Determinación del contenido total y dividido en fracciones de mayor o menor solubilidad de Pb en el suelo (antes y después del lavado).
- Determinación del pH y CE en el suelo después del lavado.
- Determinación de Pb en los lixiviados.

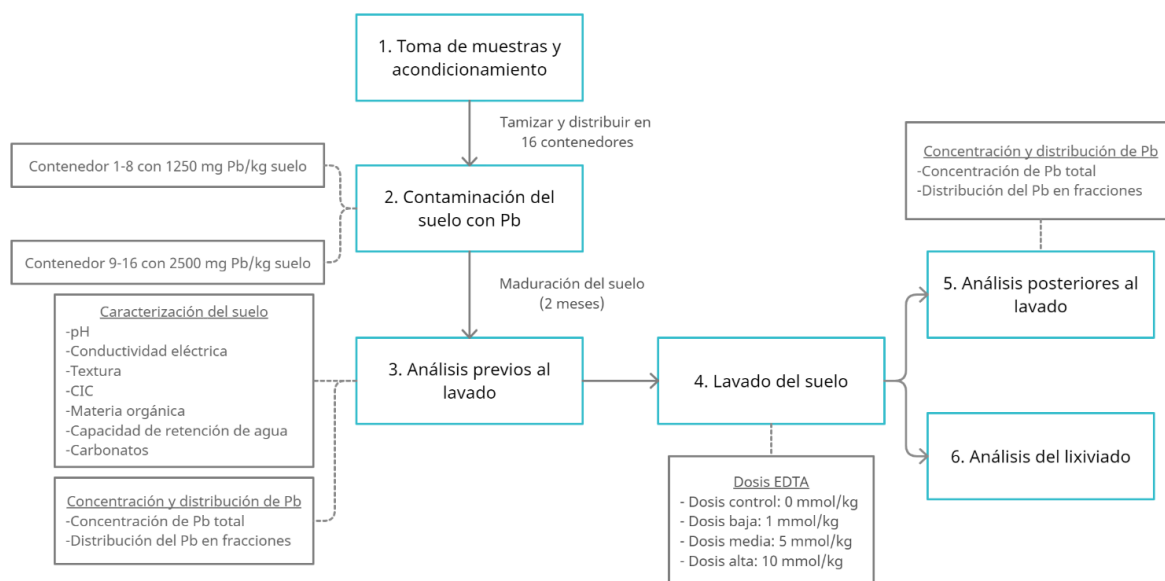


Figura 5. Diagrama del diseño experimental y del procedimiento operativo. Elaboración propia.

A continuación, se describe de forma más detallada los procedimientos llevados a cabo en el experimento.

3.3.1. Muestreo de suelo, contaminación con Pb y maduración.

Para la realización de este experimento se escogió el horizonte más superficial (Ah, 0 a 15 cm) de un suelo calizo (Haplic Calcisol), un suelo muy característico de Aragón, localizado en el pinar del vial de acceso al IES Pirámide en Huesca. Se trata de un suelo formado sobre materiales detríticos cuaternarios, de naturaleza carbonatada, caracterizado por una moderada a alta incorporación de materia orgánica en superficie y por un activo, aunque parcial proceso de descarbonatación superficial y recarbonatación a partir de los 20 cm de profundidad o, en algunos puntos, incluso en el propio horizonte Ah.

Se tomaron aproximadamente 3 kg de suelo del horizonte superficial de 0-15 centímetros de profundidad, habiendo retirado previamente, en la medida de lo posible, el horizonte orgánico que lo cubría.



Figura 6. Muestreo del suelo en la zona del Pinar (IES Pirámide, Huesca).

La muestra inicial se trasladó al laboratorio, se homogeneizó y se dejó secar extendiéndola sobre la mesa del laboratorio a temperatura ambiente durante una semana, hasta peso constante. Una vez seca la muestra, se pasó por un tamiz de 2 mm para eliminar los elementos gruesos y la materia orgánica particulada de mayor tamaño. Con la muestra seca, tamizada y homogenizada de nuevo, se dispusieron un total de 16 contenedores de polietileno (PS) previamente numerados, cada uno de ellos con 100 g de muestra (Figura 7).



Figura 7. Contenedores de polietileno con 100 g de suelo.

La contaminación del suelo se llevó a cabo individualmente, mediante la adición, en cada contenedor, de 200 mL de una disolución de Pb. Para ello, se prepararon dos disoluciones de distinta concentración de Pb a partir de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ en un volumen de 2 L con agua destilada:

- Disolución 1 (0,1998 g de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$): para distribuir entre los 8 contenedores de suelo contaminado (C1) con 1250 mg kg^{-1} .
- Disolución 2 (0,3996 g de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$): para distribuir entre los 8 contenedores de suelo contaminado (C2) de 2500 mg kg^{-1} .

Tras la contaminación del suelo se procedió a su envejecimiento en una cámara de cultivo con fotoperiodo de 12 horas (12/12), donde las muestras pasaron por varios ciclos de humectación-dsecación durante un mes y medio a una temperatura de 23°C en los que se fueron añadiendo aproximadamente 200 mL de agua destilada una vez por semana. Esta etapa es fundamental debido a que, tras el dopaje, es necesario que el Pb se vaya distribuyendo y asociando a distintas fracciones del suelo.

3.1.2. Tratamiento del suelo con EDTA y lavado con agua en columnas de percolación.

El proceso de lavado se basa en hacer pasar una cierta cantidad de agua sobre el suelo para solubilizar y extraer el Pb que se encuentra en las fracciones más disponibles del suelo, como el que se encuentra en disolución y, parcialmente, asociado al complejo de intercambio catiónico. Debido a que el Pb suele asociarse mayoritariamente con fracciones del suelo menos móviles en las que el agua es incapaz de actuar, la eficacia del lavado aumenta sensiblemente al añadir agentes de lavado como el EDTA que hagan que este Pb pase a la fracción soluble para que se pueda eliminar una mayor cantidad con el lavado.

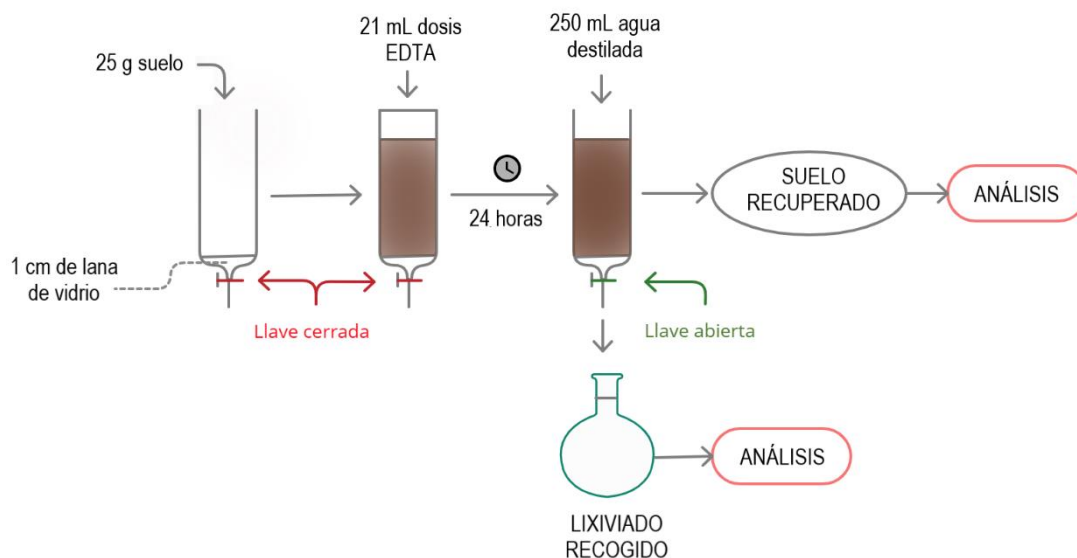


Figura 8. Diagrama del proceso de lavado del suelo. Elaboración propia.

Para llevar a cabo este proceso se han empleado columnas de percolación de 50 mL de capacidad en las que se ha colocado en el fondo una capa de lana de vidrio de aproximadamente 1 cm de grosor para evitar la pérdida de suelo durante el proceso. A continuación, se pesaron 25 gramos de muestra y se introdujeron en la columna. Con la llave de la columna cerrada se añadió un volumen equivalente a la capacidad de retención de agua del suelo ($0,8453 \text{ g g}^{-1}$, 21 mL) de la disolución con la dosis de EDTA correspondiente, se cubrió la columna con un parafilm para evitar la evaporación de la disolución y se dejó que el EDTA actuara durante 24 h para solubilizar todo el Pb posible.

La adición de los 21 mL de la disolución de EDTA aseguraba, pues, llevar el suelo a capacidad de campo, y que el volumen de agua aportado después para el lavado fuera prácticamente equivalente al volumen de lixiviado recogido.

Transcurridas 24 h de imbibición en la disolución de EDTA, se abrió la llave de la columna y se dejó pasar por gravedad 250 mL de agua destilada a través del suelo para arrastrar todo el Pb que se había conseguido solubilizar con el EDTA. El lixiviado se recogió en un matraz aforado de 250 mL y se reservó para cuantificar el Pb mediante espectrofotometría absorción atómica (EAA) a la llama.

Previo a la realización del lavado del suelo, se precisaba de varios ensayos para comprobar la cantidad de agua destilada que era necesaria para extraer todo el Pb

solubilizado por el EDTA, ya que no se encontraron referencias de otros estudios. En la Figura 9 y Figura 10 se muestran las gráficas con las pruebas de lavado realizadas.

- Inicialmente se llevó a cabo una prueba con una muestra de suelo para la dosis más baja de Pb (1250 mg kg^{-1}) y el tratamiento con 1 mmol kg^{-1} de EDTA. Para ello se preparó una columna con 1 cm de lana de vidrio y 25 g de suelo y se añadieron 21 mL de la disolución de 10 mmol kg^{-1} de EDTA y se dejó embeber el suelo durante 24 h. Pasado ese tiempo, se fueron haciendo lavados sucesivos con agua destilada, se recogieron en recipientes independientes y se fueron analizando mediante EAA a la llama hasta que no hubiese señal de Pb (Figura 9).

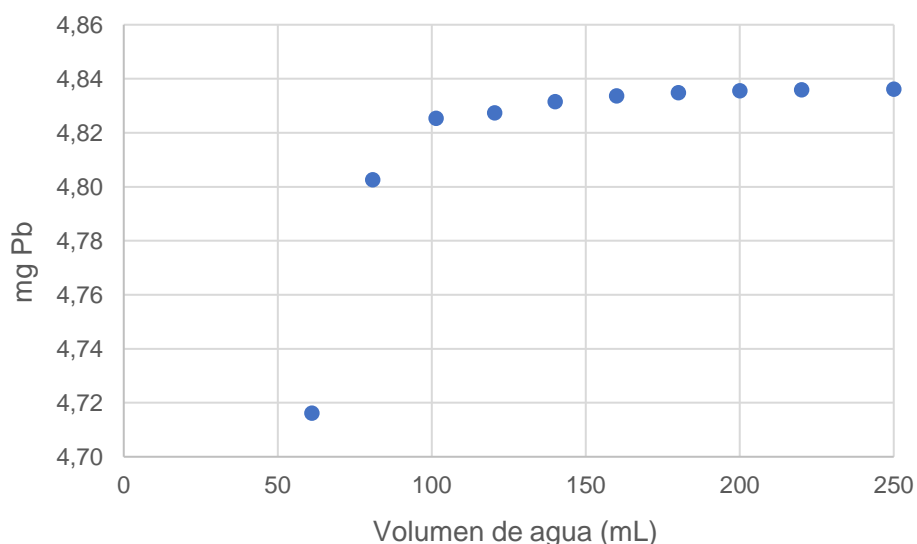


Figura 9. Cantidad acumulada de Pb extraído (mg Pb) en función del volumen añadido de agua destilada (mL) en la prueba de lavado con 1 mmol EDTA kg para el nivel de contaminación bajo (1250 mg kg^{-1}).

- Se realizó otra prueba con una muestra de suelo con la dosis más alta de Pb (2500 mg kg^{-1}) y el tratamiento con 10 mmol kg^{-1} de EDTA, puesto que es la muestra en la que más cantidad de Pb se podría solubilizar con el EDTA y por lo tanto extraer, siguiendo el mismo procedimiento descrito (Figura 10).

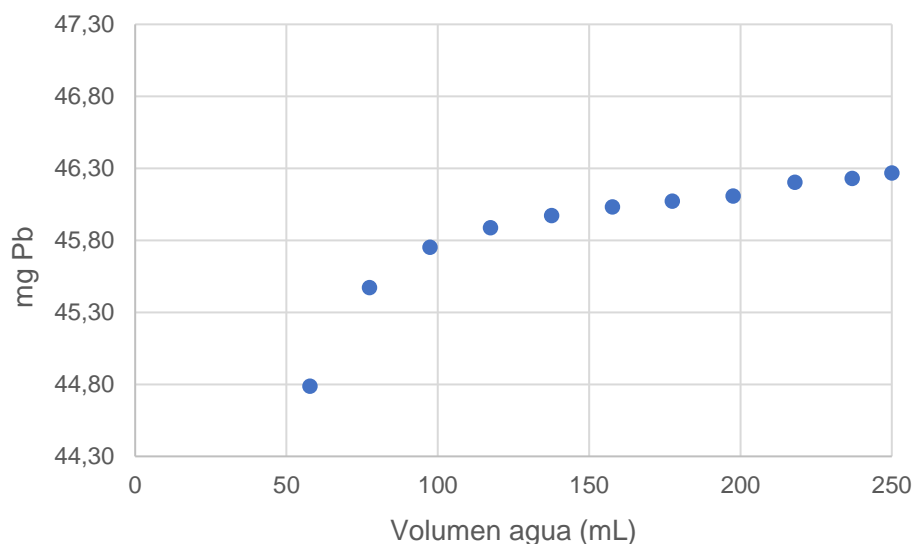


Figura 10. Cantidad acumulada de Pb extraído (mg Pb) en función del volumen añadido de agua destilada (mL) en la prueba de lavado con 10 mmol EDTA kg para el nivel de contaminación alto (2500 mg kg^{-1}).

Con ello se llegó a la conclusión de que 250 mL de agua destilada eran suficientes para arrastrar todo el Pb solubilizado en el suelo. Aunque el volumen de 250 mL de agua de lavado probablemente era excesivo para muestras menos contaminadas o con dosificaciones menores de EDTA, todas las columnas fueron lavadas con el mismo volumen de agua para homogeneizar el método.

Tras finalizar el lavado, se extrajo el suelo de cada columna y se depositó sobre un papel durante 1 semana para su secado al aire. Una vez seco, las muestras de suelo se sometieron a análisis para determinar la cantidad de Pb total tras el lavado y su distribución para poder determinar la eficacia del tratamiento.



Figura 11. Columna de percolación con suelo y recogida de lixiviados

Las dosis de EDTA que se seleccionaron fueron de 0, 1, 5 y 10 mmol kg⁻¹, de acuerdo con el estudio de Baylock et al. (1997), que observaron que se producía un importante incremento de la solubilidad del Pb entre las dosis de 1 y 5 mmol kg⁻¹ mientras que dosis inferiores a 1 mmol kg⁻¹ apenas solubilizan Pb. Otros estudios como el de Udovic y Lestan (2012) señalan que incrementar la dosis de EDTA más allá de cierta dosificación no produce un incremento proporcional en la extracción de Pb, sino que permanece prácticamente estable una vez alcanzado un máximo. Por lo tanto, la dosis máxima que se ha elegido en este trabajo es de 10 mmol kg⁻¹, ya que a partir de ésta el incremento de extracción no parece ser tan significativo como en dosis más bajas. También se preparó la dosis control con 0 mmol kg⁻¹ de EDTA para disponer de una referencia de la cantidad de Pb que se podía extraer solo con agua destilada.

Las disoluciones de EDTA se prepararon en matraces aforados de 1 L a partir de su sal disódica dihidratada (C₁₀H₁₄N₂Na₂O₈ · 2H₂O). Se pesaron 0,443 g de EDTA para la

disolución de 1 mmol kg⁻¹; 2,215 g de EDTA para la disolución de 5 mmol kg⁻¹ y 4,431 g de EDTA para la disolución de 10 mmol kg⁻¹.

3.2. Procedimientos analíticos.

Los análisis de las muestras de suelo y lixiviados se llevaron a cabo en los laboratorios de química analítica y suelos de la Escuela Politécnica Superior de Huesca.

Para la caracterización del suelo objeto de estudio, se determinaron los siguientes parámetros físico-químicos: granulometría, CRA, pH, CE, MO, CIC y contenido de carbonatos. Se seleccionaron estos parámetros para la caracterización del suelo por ser los que más directamente influyen en la solubilidad y disponibilidad del Pb en el suelo, además de ofrecer una visión general de las principales características edáficas.

Las determinaciones de la CRA, granulometría y textura, CIC y contenido de carbonatos se realizaron a partir de una muestra compuesta de los 16 contenedores, ya que son parámetros independientes de la adición de Pb. Esta muestra compuesta se preparó tomando 3 g de cada uno de los contenedores. Estos datos se han utilizado posteriormente como caracterización general del suelo. El resto de parámetros (pH, CE y MO), que se supuso que podían variar en mayor o menor medida con la adición de Pb, se determinaron para cada uno de los 16 contenedores.

También se realizó un análisis del suelo mediante el método de las extracciones secuenciales de Tessier (Tessier et al., 1979) para determinar el contenido total de Pb y de su distribución en las distintas fracciones del suelo tanto antes como después del proceso de lavado del suelo. Se realizó una única réplica analítica de cada muestra, aunque el ensayo cuenta con dos réplicas experimentales por tratamiento.

3.2.1. Determinación del pH.

La determinación del pH se realiza mediante el método potenciométrico (Chapman & Pratt, 1961), que se basa en la medida del potencial eléctrico que se crea en la membrana de vidrio de un electrodo sumergido en una disolución y que es proporcional a la concentración de iones H⁺ a ambos lados de la membrana. Se utiliza un pHmetro (Orion Star A111) previamente calibrado con disoluciones tampón de pH 4 y pH 7.

Para ello se ha preparado una suspensión acuosa 1:2,5 con 10 gramos de muestra de suelo y 25 mL de agua destilada. El extracto se deja en agitación durante 30 min y posteriormente se mide directamente el pH de la suspensión.

3.2.2. Determinación de la conductividad eléctrica.

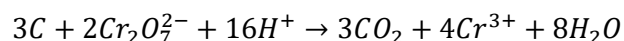
Se trata de la medida de las sales solubles del suelo que comprende un amplio rango de aniones y cationes en el suelo, ya sean en forma sólida cristalizada o disueltos en la solución del suelo.

Para su determinación se mide la capacidad que presenta la disolución acuosa de permitir el paso de una corriente eléctrica y esto va a depender de la cantidad de iones que presente dicha disolución. El método que se empleó fue la conductimetría a partir de extractos diluidos (Pansu & Gautheyrou, 2006). Normalmente se expresa en dS m^{-1} .

Se prepara un extracto 1:5 con 10 g de muestra y 50 mL de agua destilada y se deja en agitación durante 1 h y 30 min. Pasado el tiempo se deja reposar para que precipite el sólido y se filtra con ayuda de un embudo el sobrenadante del extracto. Del filtrado se mide la CE con un conductímetro (Orion 120 Microprocessor).

3.2.3. Determinación de materia orgánica.

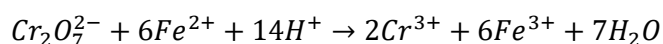
Se ha empleado el método de Walkey y Black (Pansu & Gautheyrou, 2006), que se basa en la oxidación del carbono orgánico del suelo con dicromato potásico en medio ácido y posterior valoración del exceso de oxidante con sulfato ferroso amónico (sal de Mohr). La cantidad de dicromato reducido es proporcional a la cantidad de carbono orgánico que contiene el suelo.



Para el análisis se va a emplear ácido crómico 0,4 N, que se prepara a partir de 19,616 g de $K_2Cr_2O_7$ que se disuelve en una mezcla 1:1 de 500 mL de H_2SO_4 y 500 mL de H_3PO_4 .

Se pulveriza una pequeña cantidad de muestra con ayuda de un mortero y se pesan entre 0,15 y 0,20 g de esta muestra, se pasa a un tubo de ensayo y se le añade 10 mL de ácido crómico 0,4 N. Paralelamente se preparan 3 blancos añadiendo sólo 10 mL de ácido crómico en el tubo de ensayo.

Se agita la mezcla con ayuda de un vórtex, se traslada al digestor a 150°C durante 10 min y se deja enfriar en baño de agua a temperatura ambiente. Se traspasa todo el contenido a un erlenmeyer con ayuda de 90 mL de agua destilada en lavados sucesivos y se añade un par de gotas de indicador ferroína 0,025 M. Finalmente, se valora el exceso de dicromato con la disolución de sal de Mohr 0,2 N.



A través de este procedimiento se determina el contenido de carbono orgánico oxidable (g kg^{-1}) en las muestras de suelo.

Para estimar el contenido de la materia orgánica oxidable se emplea el factor de Van Bemmelen debido a que entre el 50-58% de la materia orgánica corresponde a carbono orgánico.

Este factor es de 1,724 para muestras que contengan menos de 58 g kg^{-1} de carbono orgánico y de 2,0 para muestras que contengan más de 58 g kg^{-1} de carbono orgánico.

$$MO(\text{g kg}^{-1}) = \text{factor} \times (C_{\text{orgánico}} (\text{g kg}^{-1}))$$

3.2.4. Determinación de Capacidad de Intercambio Catiónico.

El complejo de cambio o complejo arcillo-húmico es aquella fase del suelo constituida por la arcilla y la materia orgánica que tiene la capacidad de adsorber cationes ya que presenta carga negativa e intercambiarlos por otras especies iónicas en disolución (Garrido, 1993).

La CIC se define entonces como la cantidad de carga, en forma de cationes, que puede retener esta fase y que es de vital importancia conocer ya que ésta nos va a indicar cuál es el potencial del suelo para retener e intercambiar nutrientes necesarios para la nutrición de las plantas. También una parte del Pb aportado al suelo, en tanto que catión, quedará retenido al complejo de cambio del suelo, representando una de las fracciones más biodisponibles de este elemento. La CIC se expresa habitualmente en términos de cantidad de carga eléctrica que se puede adsorber por cantidad de masa de suelo ($\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$).

El método consiste en primer lugar en una extracción de los cationes retenidos por el complejo de cambio con acetato amónico (NH_4Ac), esto hace que cationes como el Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ y Na^+ sean sustituidos por iones NH_4^+ en el complejo de cambio. Tras esto, que conlleva la saturación del complejo de intercambio catiónico por NH_4^+ , el exceso de amonio no retenido se lava con una disolución de etanol al 80%, tras lo cual el amonio adsorbido se extrae con cloruro de potasio (KCl) para su posterior destilación Kjeldahl y cuantificación mediante valoración ácido base.

Para esta determinación se pesan 5 g de suelo de la muestra compuesta en un tubo de centrífuga. A continuación, se añaden 30 mL de NH_4Ac a pH 7 y se dejan en agitación durante 15 min. Luego se centrifuga durante 5 min a 4000 rpm y se filtra el sobrenadante

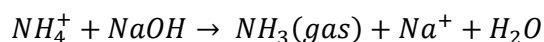
a un erlenmeyer. Esta extracción se repite dos veces más añadiendo otros 30 mL de NH_4Ac .

Se realiza el lavado de las muestras con 30 mL de etanol 80% realizando la misma operación descrita anteriormente, sin embargo, el sobrenadante no se conserva tras la centrifugación. Esta misma operación se repite 2 veces más.

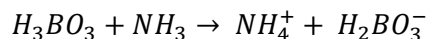
Finalmente se realiza una extracción de los iones de amonio adsorbidos por el suelo, añadiendo a la muestra 30 mL de cloruro de potasio (KCl) 1M y repitiendo el proceso descrito anteriormente dos veces más. El sobrenadante tras la centrifugación de la muestra se filtra y recoge en un erlenmeyer. El contenido de las tres extracciones se conserva para su posterior análisis y se le añaden 5 mL de H_2SO_4 96% para evitar la volatilización del NH_4^+ .

Para el cálculo de la CIC del suelo se realiza la determinación de los iones de amonio que contienen cada una de las réplicas de la última extracción a través del método de Kjeldahl, y se expresan como cantidad de carga ($1 \text{ mol NH}_4^+ = 1 \text{ mol}_c$) por masa de suelo.

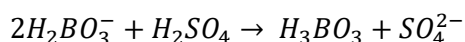
En un tubo Kjeldahl, se toman 20 mL de extracto, se adicionan 3-4 gotas de fenolftaleína y se coloca en el destilador. Se añade hidróxido de sodio concentrado (NaOH) y se procede a la destilación del amonio gas (NH_3):



El NH_3 generado condensa y se recoge en un erlenmeyer que contiene 50 mL ácido bórico (H_3BO_3) con 3-4 gotas de indicador mixto (Rojo de Metilo-Verde de Bromocresol)



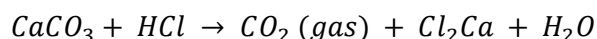
Finalmente, se valora la disolución resultante con una disolución de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0,1N (0,05M):



3.2.5. Determinación de carbonatos.

Para cuantificar la cantidad de carbonatos presentes en el suelo se emplea el calcímetro de Bernard. Este método se basa en la descomposición de los carbonatos por la acción

de ácido clorhídrico (HCl), lo que provoca la producción de CO₂ a partir del cual se puede calcular la cantidad de carbonatos existentes.



En primer lugar, se prepara el calcímetro de Bernard llenando la columna con una solución salina saturada que tiene por objetivo evitar la disolución del CO₂ formado y que, en consecuencia, éste empuje la columna a través del tubo graduado del calcímetro.

Se preparan las muestras patrón con 0,2 g de CaCO₃ y se traspasan a un matraz. A continuación, se coloca un cubilete de plástico en medio del matraz y se rellena con 5 mL de HCl 1:1 con ayuda de una pipeta para no verter gotas fuera del cubilete.

El matraz se conecta al calcímetro de Bernard y se anota el nivel de la columna nivelado con el del depósito antes de derramar el cubilete con el HCl. Tras esto, se agita el matraz vertiendo todo el HCl del cubilete para provocar la reacción con el CaCO₃ y se vuelve a medir el nivel que marca la columna nivelada con el del depósito. Se repite el proceso con dos patrones más de CaCO₃.

Finalmente, se repite el mismo proceso con la muestra de suelo esta vez pesando 0,4 g de muestra.

El cálculo de los carbonatos de la muestra se efectuó a partir de la siguiente expresión:

$$\% Carbonatos = \frac{L \times P'}{L' \times P} \times 100$$

donde:

L es el volumen de CO₂ desprendido por el suelo en mL.

L' es el volumen de CO₂ desprendido por el CaCO₃ en mL.

P es el peso seco del suelo en gramos.

P' es el peso de CaCO₃ en gramos.

3.2.6. Determinación del contenido de Pb en suelos: total y fraccionado.

La metodología empleada para este análisis se basa en la extracción química secuencial propuesta por Tessier (Julián & Collado, 2002), que consiste en la exposición de una determinada muestra sólida ante una serie de reactantes químicos. Con ello se pretende determinar la especiación, es decir, la distribución de las diferentes formas en las que

se encuentran los metales traza en el suelo y así poder conocer su biodisponibilidad y potencial de movilidad. Durante el proceso se emplean diferentes disoluciones extractantes que se pueden clasificar de la siguiente manera: electrolitos inertes concentrados, ácidos débiles, agentes reductores, agentes oxidantes y ácidos fuertes (Rauret, 1998). Las condiciones experimentales tales como temperatura, tiempo de exposición, condiciones de agitación también varían entre una etapa y otra de la extracción.

El procedimiento de Tessier consta de 5 etapas de las que se obtienen 5 fracciones (Figura 12): soluble en agua e intercambiable (fracción I), asociados a carbonatos (fracción II), asociados a óxidos de hierro y manganeso (fracción III), asociados a materia orgánica (fracción IV) y la fracción residual (fracción V) (Tessier et al., 1979).

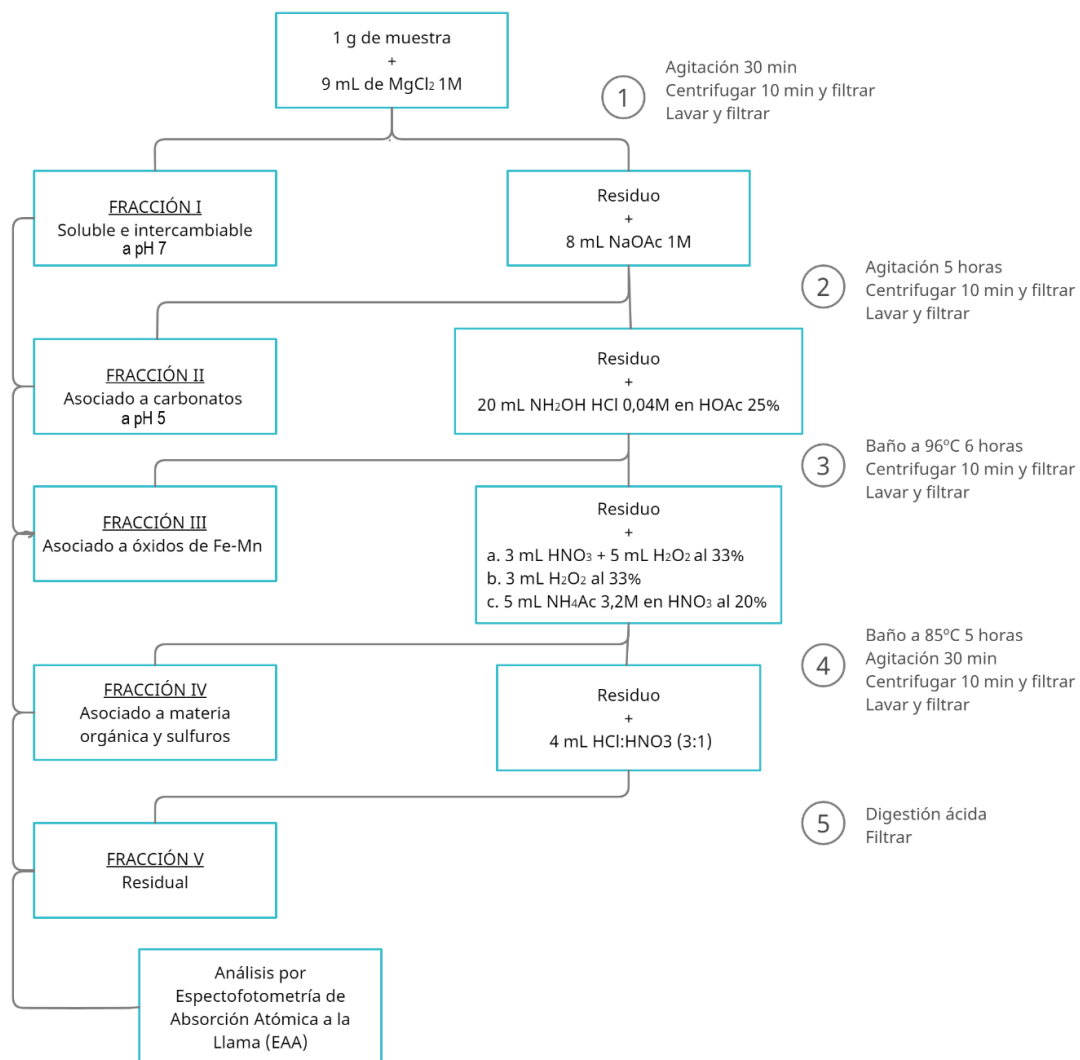


Figura 12. Diagrama del método extracciones secuenciales de Tessier.

A continuación, se detalla el procedimiento seguido en cada una de las etapas.

Fracción I (soluble-intercambiable): se pesa 1 g de muestra de suelo y se deposita en un tubo de centrifuga. Se añade 9 mL de cloruro de magnesio (MgCl_2) 1M a pH 7, y se coloca el tubo en un agitador orbital. Tras mantener en agitación continua a temperatura ambiente durante 1 h, se centrifuga durante 10 min a 3000 rpm. Se extrae el sobrenadante con ayuda de una pipeta Pasteur y se pasa a un matraz aforado de 25 mL a través de un filtro. Se añade aproximadamente 10 mL de agua destilada al tubo con la muestra, se agita brevemente, se centrifuga, se recoge el sobrenadante, se filtra sobre el matraz. Finalmente, se enrasa el matraz con agua destilada y se reserva la disolución resultante hasta su análisis.

Fracción II (asociado a carbonatos): al residuo de la extracción anterior se le añaden 8 mL de acetato sódico (NaOAc) 1M a pH 5 y se ponen en agitación continua en un orbital durante 5 h a temperatura ambiente. A continuación, se opera de la misma manera que en la extracción anterior trasvasando el sobrenadante filtrado a un matraz de 25 mL y realizando el lavado de la muestra descrito anteriormente. Finalmente, se enrasa el matraz con agua destilada y se reserva.

Fracción III (asociado a óxidos de hierro y manganeso): al residuo de la extracción anterior se le añaden 20 mL de clorhidrato de hidroxilamina ($\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$) 0,04 M en acético al 25% y se introducen en un baño termostático a 96°C durante 6 h con agitación ocasional. Transcurrido ese tiempo se dejan enfriar las muestras a temperatura ambiente, se agitan con ayuda de un vórtex y se ponen en centrifugación durante 10 min.

El sobrenadante se filtra a un matraz aforado de 25 mL y se realiza un lavado de la muestra como anteriormente. Finalmente, se enrasa el matraz con agua destilada.

Fracción IV (asociado a materia orgánica y sulfuros): al residuo de la extracción anterior se le añaden 3 mL de ácido nítrico (HNO_3) 0,02 M a pH 2 más 5 mL de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 33% y se meten los tubos en un baño termostático a 85°C durante 2 h con agitación ocasional. Pasado ese tiempo, se le añaden 3 mL adicionales de H_2O_2 al 33% y se vuelven a meter los tubos en el baño termostático a 85°C durante 3 h más con agitación ocasional.

A continuación, se dejan enfriar los tubos y se le adicionan 5 mL de acetato de amonio (NH_4Ac) 3,2 M en HNO_3 al 20% y se pone en agitación constante a temperatura

ambiente durante 30 min. Luego se centrifuga durante 10 min y se procede al filtrado y lavado de las muestras como en extracciones anteriores.

El extracto se recogió en un matraz aforado de 25 mL y se enrasa.

Fracción V (residual): el residuo anterior se trasvasa a un vaso de teflón arrastrándolo con 4 mL de una mezcla compuesta por HCl-HNO₃ (agua regia) en proporción 3:1. Se le añade otro mL de HNO₃ para asegurar de que todo el residuo del tubo quede en el vaso de teflón.

A continuación, se cierra el vaso de teflón herméticamente y se introduce en un horno microondas durante 5 min a 60W de potencia. Pasado ese tiempo se deja enfriar en un baño de agua y se filtra el contenido del vaso a un matraz aforado de 25 mL en una campana extractora. Se realizan 3 lavados del vaso de teflón para que no queden restos y se enrasa el matraz.

Paralelamente, para cada fracción se preparan los blancos de reactivos correspondientes siguiendo el mismo procedimiento.

Como el proceso total requerido para aplicar la metodología de las extracciones secuenciales a todas las muestras de suelo (16 contenedores) implica un elevado número de horas de trabajo en laboratorio (días), tanto las disoluciones obtenidas (extractos fracciones) como los residuos sólidos (suelos), se conservaron en el frigorífico hasta que se realizaron las determinaciones de Pb.

Finalmente, se procede a la cuantificación del Pb en las distintas fracciones mediante EEA a la llama (aire/acetileno) (Varian SpectrAA-110). Inicialmente se configuran los parámetros de medición, seleccionando una longitud de onda de 217 nm, la lámpara de cátodo hueco de Pb, el número de réplicas para cada una de las disoluciones muestras (2 en nuestro caso). Se preparan y se miden 5 disoluciones patrón de Pb de 1, 2, 5, 10 y 15 ppm para realizar el calibrado y a continuación se miden los blancos y las disoluciones o extractos de las distintas fracciones (o una dilución de estas en el caso de que la concentración de Pb se encuentre fuera del rango de medida). En base a los datos de absorbancia, se calcula la recta de calibrado para el Pb y se determina la concentración de Pb en los extractos y por ende en las 5 fracciones de suelo (mg kg⁻¹). El contenido total de Pb en el suelo se calcula como la suma de las concentraciones de las 5 fracciones.

3.2.7. Determinación del contenido de Pb en los lixiviados.

La concentración de Pb (mg L^{-1}) en los lixiviados se determina directamente mediante EAA a la llama, previa calibración con patrones de Pb.

3.2.8. Determinación de la granulometría.

Consiste en la determinación de la abundancia relativa de distintos tipos de partículas minerales en función de su tamaño. Para ello se ha empleado el método de sedimentación discontinua (Soil Science Division Staff, 2017), que se basa en el hecho de que la velocidad de sedimentación de las partículas minerales dependerá del peso de éstas. Las partículas más gruesas como la arena tardarán menos en sedimentar mientras que las más finas como la arcilla tardarán más, de modo que, una vez individualizadas todas las partículas minerales del suelo y suspendidas en una columna de sedimentación, al ir tomando muestras de esta suspensión a lo largo del tiempo, ésta contendrá progresivamente partículas más finas, debido a la sedimentación más rápida de las más gruesas (sedimentación diferencial).

Para la clasificación de las partículas del suelo en distintas clases de tamaños se ha empleado el sistema USDA (United States Department of Agriculture), que clasifica las partículas minerales que conforman la fracción tierra fina ($\phi < 2 \text{ mm}$) en arena gruesa ($2 - 0,2 \text{ mm}$), arena fina ($0,2 - 0,05 \text{ mm}$), limo grueso ($0,05 - 0,02 \text{ mm}$), limo fino ($0,02 - 0,002 \text{ mm}$) y arcilla ($\phi < 0,002 \text{ mm}$) (Figura 13).

USDA	FINE EARTH										ROCK FRAGMENTS				
	Clay		Silt		Sand					Gravel			6"	15"	24"
	fine	co.	fine	co.	v.f.	fi.	med.	co.	v.co.	fine	medium	coarse	flagst	stones	boulders
	0.0002	.002 mm	.02	.05	.1	.25	.5	1	2 mm	5	20	76	150	380	600 mm

Figura 13. Clasificación granulométrica USDA. Extraído de Soil Science Division Staff, (2017).

Para asegurar la completa individualización de las partículas minerales, la primera fase de la preparación de las muestras consiste en la oxidación de la materia orgánica coloidal. Para ello se colocan dos muestras de 10 g cada una, en recipientes metálicos, se humedecen con un poco de agua destilada y se les añaden 5 mL de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y se pone en una placa calefactora para que la reacción de oxidación se produzca más rápidamente. Con esto se produce una reacción de efervescencia que pierde intensidad conforme se va consumiendo el peróxido de hidrógeno y se va oxidando la materia orgánica. Cuando la reacción pierde intensidad se añaden 5 mL más de peróxido de hidrógeno hasta que la adición de peróxido deja de tener reacción.

El siguiente paso consiste en la dispersión de las arcillas. Para ello se traspasa cada una de las muestras a una botella, usando 250 mL de agua destilada, y adicionando 15 mL de un dispersante químico, como es el Calgón (mezcla de hexametáfosfato de sodio $((\text{Na}_2\text{PO}_3)_6)$ y carbonato sódico (Na_2CO_3)) y poniéndolo en un agitador orbital durante 6 h. Ello satura las arcillas de sodio, lo que asegura su total dispersión en la suspensión acuosa.

Pasado el tiempo ya se puede realizar el fraccionamiento de la muestra sin que haya interferencias causadas por la microagregación del suelo o la floculación de las arcillas. Para ello se filtra la suspensión de la botella a una columna de vidrio con un tamiz de PVC de 0,5 mm previamente tarado para eliminar las arenas gruesas (AG). Se lavan las AG retenidas por el tamiz con agua destilada para asegurar que no quedan partículas de diámetro inferior en el tamiz y se rellena la columna de sedimentación hasta 1L.

La columna de sedimentación así preparada contiene la arena fina (AF), limo grueso (LG), limo fino (LF) y arcilla (A) de la muestra, pero no la arena gruesa (AG), que ha sido separada por tamizado.

A la temperatura de trabajo en baño termostático (24°C), las AF tardan 42 s en sedimentar en una columna de 10 cm de altura, los LG tardan 4 min y 22 s, y los limos finos tardan 7h y 16 min. Por tanto, una vez homogeneizada la suspensión acuosa, se extrae a los 42 s una muestra a 10 cm de profundidad que contiene A+LF+LG, otra muestra a los 4 min y 42 s, que contiene A+LF, y otra muestra a las 7h y 16 min, que contiene solamente A.

Todas las muestras se extraen mediante una pipeta Robinson, que permite colocar el extremo de la pipeta a la profundidad deseada (10 cm) y extraer en el momento deseado un volumen calibrado de 20 ml de suspensión, tras lo que se llevan a desecación para determinar las cantidades de los distintos tipos de partículas en cada muestra.

Finalmente, la separación de las arenas finas se realiza a través de decantaciones sucesivas, rellenando la suspensión con agua hasta 10 cm de altura, agitándola y decantando a los 42 s que es cuando han sedimentado únicamente las arenas finas. Este proceso termina cuando a los 42 s la suspensión queda transparente, lo que indica que ya solamente contiene las AF.

Todas las muestras recogidas se ponen en la estufa para su secado y se pesan. A continuación, es necesario expresar todos los contenidos de arenas, limos y arcillas en porcentaje respecto al suelo seco, lo que constituye la granulometría del suelo. Finalmente, la granulometría se puede usar para determinar la clase textural del suelo, para lo que se emplea el diagrama triangular del sistema USDA (Figura 14).

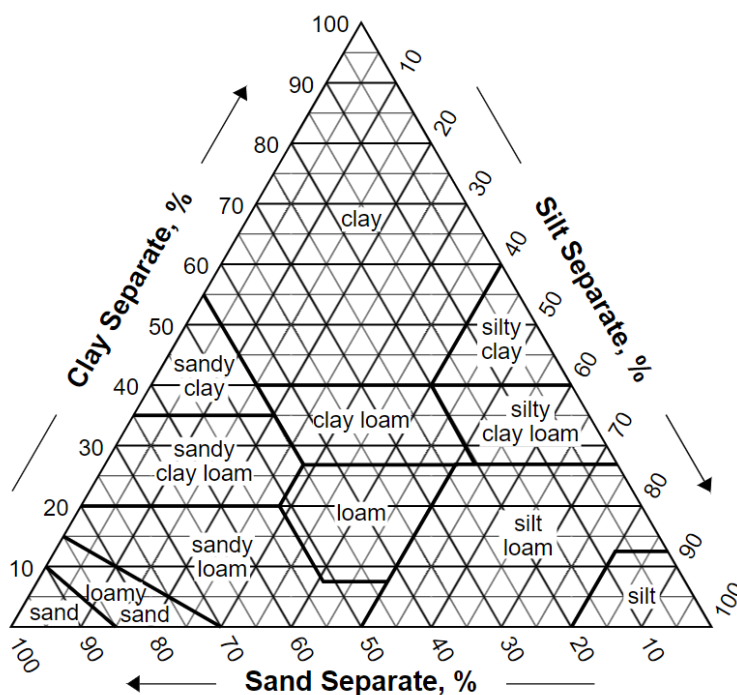


Figura 14. Diagrama triangular para determinar la clase textural USDA. Extraído de Soil Science Division Staff, (2017).

3.2.9. Capacidad de retención de agua.

El método consiste en llevar a saturación una masa conocida de suelo para posteriormente dejar drenar el agua gravitacional, la que se aloja en poros de gran tamaño y que el suelo no es capaz de retener. La cantidad de agua que es capaz de retener el suelo se expresa como masa de agua retenida respecto al peso seco de suelo (g g^{-1}). Para esta determinación se han realizado 4 réplicas analíticas.

Se coloca una tela de nylon sobre la base de un cilindro metálico sujeta con una goma y se pesa el conjunto del material. A continuación, se llena el cilindro hasta la mitad con muestra de suelo seco al aire y se pesa el conjunto del cilindro más el suelo. Se sumerge el cilindro en un recipiente con agua hasta un nivel un poco superior al nivel del suelo, pero sin que llegue a rebosar y se moje la muestra, y se deja el cilindro aproximadamente dos horas para que se sature de agua.

Transcurrido ese tiempo se sacan los cilindros del agua, se dejan escurrir sobre una rejilla y se tapan con un material plástico para evitar la evaporación del agua. Se dejan drenar durante 24 h y luego se pesa el conjunto para determinar la cantidad de agua que es capaz de retener el suelo.

3.3. Análisis estadístico.

El análisis de la varianza (ANOVA) es una técnica estadística que consiste en el estudio del efecto de uno o varios factores sobre la media de una variable. Este se basa en el contraste de una hipótesis nula en la que no existen diferencias entre las medias de las poblaciones frente a una hipótesis alternativa de que por lo menos una de las poblaciones difiere de las demás. En nuestro caso, las fuentes de variación que se han considerado han sido la dosis de Pb (2 niveles, 1250 y 2500 mg kg⁻¹) y la dosis de EDTA (4 niveles, 0, 1, 5 y 10 mmol kg⁻¹).

Además, cuando ha sido preciso estudiar en detalle el efecto de la dosis de EDTA sobre alguno de los parámetros medidos, éste se ha estudiado mediante análisis de regresión, tomando como variable independiente la dosis de EDTA y como dependiente el parámetro en cuestión.

Al tratarse de un test paramétrico, ha sido preciso comprobar previamente la normalidad y homogeneidad de varianzas del conjunto de datos que han sido sometidos a análisis.

El programa empleado para realizar los análisis ANOVA fue StatView (SAS Institute Inc. 1992-1998, versión 5.0.1).

4. RESULTADOS

4.1. Caracterización del suelo.

En este apartado se muestran los resultados obtenidos del análisis de las propiedades químicas y físicas del suelo para su caracterización. También se incluyen los datos de la distribución del contenido de Pb en las distintas fracciones del suelo contaminado artificialmente, así como su contenido total.

4.1.1. Características generales.

En la Tabla 2 se muestran los valores obtenidos de los parámetros determinados para caracterizar el suelo una vez contaminado. Para caracterizar el suelo, se ha calculado un promedio de los valores de pH, CE y MO de cada uno de los contenedores, mientras que los datos de granulometría, carbonatos, CIC y CRA proceden de cuatro replicados analíticos de una muestra compuesta.

Tabla 3. Características físico-químicas del suelo contaminado (media \pm desviación estándar).

Propiedades	
pH*	7,60 \pm 0,15
CE (dS m ⁻¹)	0,24 \pm 0,09
MO (g kg ⁻¹)	81,65 \pm 8,41
Carbonatos (%)	19,90 \pm 1,15
CIC (cmol _c kg ⁻¹)	19,64 \pm 0,53
Arena gruesa (%)	17,57 \pm 1,41
Arena fina (%)	22,41 \pm 1,57
Limo grueso (%)	11,18 \pm 1,11
Limo fino (%)	13,22 \pm 0,68
Arcillas (%)	35,62 \pm 0,27
Textura	Franco-arcillosa
CRA (g g ⁻¹)	0,84

Como se puede observar, el valor medio de pH del suelo es de 7,60 lo que hace que este suelo sea ligeramente básico (Weil & Brady, 2017). Estos niveles de pH se deben a que se trata de un suelo fuertemente calcáreo con un contenido en CaCO₃ entre el 10-25% (Vargas, 2009), pero también, a que la actividad biológica constituye una fuente continua de acidez que tiene su origen, por ejemplo, en la mineralización de la materia orgánica.

Este suelo presenta valores relativamente bajos de conductividad eléctrica ($0,24 \text{ dS m}^{-1}$), lo cual nos indica que tiene poco contenido en sales solubles y que no presenta problemas de salinidad. Se considera que en un suelo existe salinidad, y en este caso se recomiendan mediciones en extracto de pasta saturada, cuando presenta una CE a partir de $0,2$ a $0,25 \text{ dS m}^{-1}$ en extracto 1:5 (Porta et al., 1986), por lo que en este suelo se encuentra justo en límite inferior de este rango.

La CIC del suelo puede considerarse como media, por lo que este suelo va a presentar una habilidad moderada para retener nutrientes y suministrarlos a las plantas. Por la misma razón, este suelo puede tener la capacidad de adsorber cantidades apreciables de Pb en su complejo de intercambio catiónico. La CIC del suelo también está relacionada con el pH del suelo, por la parte que procede de la disociación de ciertos grupos funcionales de la materia orgánica, como los carboxílicos y fenólicos, la cual es más baja a pH ácidos y va incrementándose a medida que el pH aumenta.

El contenido de materia orgánica es muy elevado, oscilando entre $80\text{-}90 \text{ g kg}^{-1}$ lo cual es explicable por tratarse de la porción más superficial del suelo de un pinar en el que el aporte de MO es bastante elevado y se produce fundamentalmente desde la superficie, a partir de la caída de la hojarasca. Además, el contenido en carbonatos del suelo, entorno a un 20%, actúa como un mecanismo de protección de la MO frente al ataque microbiano, dificultando su labor de descomposición.

Este suelo presenta un contenido total de arena en torno al 40%, un contenido en limo total de casi el 25% y un contenido en arcillas de 35,62% lo que le confiere al suelo la clasificación textural de franco-arcilloso según el diagrama USDA (Figura 14). Gracias a la abundancia de arena y con un fuerte desarrollo estructural gracias a la abundancia de materia orgánica, arcilla y cationes floculantes procedentes de la descarbonatación, no es esperable que se presenten problemas de apelmazamiento o compactación que pudieran limitar la conductividad hidráulica y la capacidad de lavado.

4.1.2. Fraccionamiento y contenido total de Pb en el suelo antes del lavado.

En la Tabla 4 se muestran concentraciones de Pb obtenidas tras la aplicación de las extracciones secuenciales antes de la adición de las dosis de EDTA para el lavado del suelo. El contenido total de Pb en el suelo se ha obtenido mediante la suma de las 5 fracciones para cada uno de los tratamientos. Estos valores se aproximan a las dosis nominales con las que se ha dopado el suelo, C1 (1250 mg kg^{-1}) y C2 (2500 mg kg^{-1}) respectivamente.

Tabla 4. Concentración de Pb (mg kg⁻¹) en las 5 fracciones del suelo antes del lavado, según el método de extracciones secuenciales de Tessier (media ± desviación estándar, n=2) y contenido total de Pb.

Tratamiento	F1 Intercambiable	F2 Carbonatos	F3 Óxidos de Fe-Mn	F4 MO	F5 Residual	Total
C1.0	25,80 ± 1,63	620,14 ± 25,85	293,48 ± 25,05	154,10 ± 6,07	46,31 ± 0,74	1139,82 ± 32,32
C1.1	26,41 ± 4,74	658,52 ± 12,92	313,99 ± 17,73	146,05 ± 9,43	46,38 ± 3,10	1191,34 ± 27,18
C1.5	25,10 ± 0,37	668,48 ± 22,36	290,67 ± 5,83	150,58 ± 4,10	46,83 ± 7,72	1181,66 ± 17,11
C1.10	36,12 ± 10,48	748,58 ± 16,89	299,80 ± 13,38	149,53 ± 15,06	42,66 ± 0,81	1276,68 ± 21,12
C2.0	78,60 ± 4,36	1460,00 ± 9,81	533,86 ± 67,71	248,10 ± 28,24	48,70 ± 3,14	2369,25 ± 73,92
C2.1	85,17 ± 3,76	1462,57 ± 141,64	509,25 ± 144,85	309,09 ± 83,10	54,08 ± 4,97	2420,15 ± 57,35
C2.5	79,70 ± 1,89	1390,10 ± 72,36	533,03 ± 29,81	237,12 ± 28,26	48,96 ± 2,54	2288,89 ± 53,20
C2.10	82,10 ± 6,46	1396,00 ± 18,26	493,35 ± 1,69	232,46 ± 4,95	46,56 ± 0,37	2250,46 ± 5,78

* C1 y C2 corresponden a las dosis de Pb de 1250 y 2500 mg kg⁻¹, respectivamente, y la numeración 0, 1, 5 y 10 a la dosis de EDTA (mmol kg⁻¹).

En la Figura 15 se representa gráficamente la distribución porcentual del Pb en las fracciones en función del nivel de contaminación. Se muestra la contribución de cada una de las fracciones sobre la concentración total del metal.

Se observa que la fracción mayoritaria es siempre la asociada a los carbonatos (F2), que alberga entre un 54-64% de Pb, lo cual es comprensible debido a que se trata de un suelo calizo, con un contenido elevado en carbonatos. A continuación, por orden de abundancia, está la fracción asociada a óxidos de Fe-Mn (20-27%) y la asociada a la MO (9-15%). Finalmente, el contenido de Pb en las fracciones intercambiable y residual representan un porcentaje muy bajo, entre 1,8-4% y 2-4,5% respectivamente.

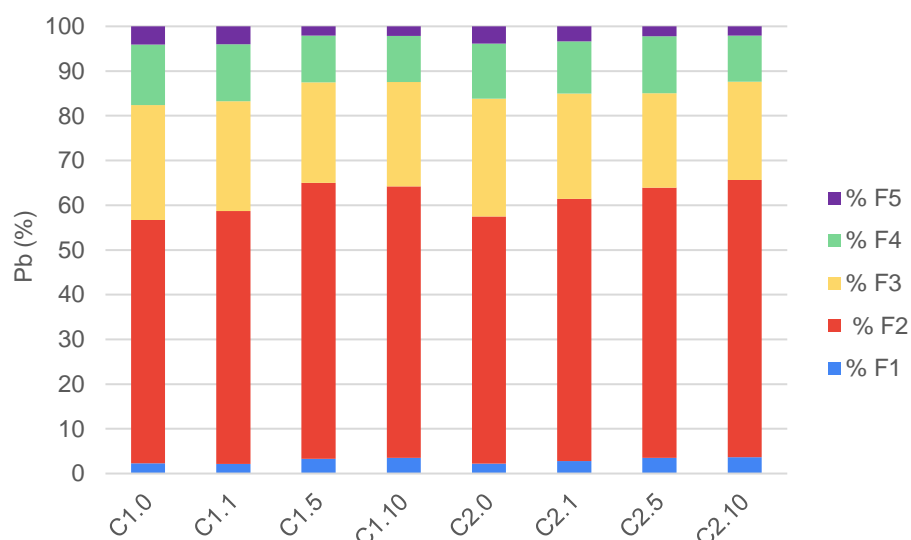


Figura 15. Distribución de Pb (%) en las fracciones en función del nivel de contaminación y dosis de EDTA que se añadirán en el lavado. F1: Intercambiable; F2: Carbonatos; F3: Óxidos de Fe-Mn; F4: MO; F5: Residual.

El ANOVA de dos factores (dosis de Pb y fracción) sobre la distribución porcentual del Pb en fracciones mostraba una interacción significativa entre ambos factores, por lo que se realizó un doble ANOVA (Tabla 5) para evaluar la existencia de diferencias significativas entre la distribución porcentual de Pb en las 5 fracciones para el mismo nivel de contaminación y si había diferencias entre niveles de contaminación bajo o alto (C1 y C2 respectivamente) para cada una de las fracciones.

Tabla 5. Distribución del Pb (%) por fracciones y análisis de la varianza en función del nivel de contaminación antes del lavado, en filas, y del efecto del nivel de contaminación sobre cada fracción, en columnas. Se adjunta para cada análisis el valor P correspondiente. Para un mismo nivel de contaminación, las letras distintas indican la existencia de diferencias significativas entre fracciones.

Nivel contaminación	%F1	%F2	%F3	%F4	%F5	P
C1	2,36 ± 0,44 e	56,22 ± 1,74 a	25,04 ± 1,40 b	12,56 ± 0,91 c	3,82 ± 0,42 d	< 0,0001
C2	3,45 ± 0,23 d	61,12 ± 1,91 a	22,22 ± 2,87 b	10,96 ± 1,64 c	2,13 ± 0,09 e	< 0,0001
P	< 0,0001	< 0,0001	0,0257	0,0304	< 0,0001	

* C1 y C2 corresponden a las dosis de Pb de 1250 y 2500 mg kg⁻¹, respectivamente

Los análisis revelan que la distribución del Pb entre las 5 fracciones es significativamente diferente tanto en C1 como en C2, aunque las fracciones F2, F3 y F4 son siempre las más abundantes. No obstante, en el nivel de contaminación C1 se encuentra más Pb en la fracción F5 que en la F2, mientras que este resultado es opuesto en el caso del nivel de contaminación C2. Si se comparan los resultados entre los niveles

C1 y C2 para la misma fracción se aprecian ciertas diferencias de abundancia de Pb, dependiendo de la fracción considerada, por lo que la concentración total de Pb afecta, aunque levemente, a la distribución del metal en las distintas fracciones.

4.2. Análisis de lixiviados y suelos después del proceso de lavado.

En este apartado se van a mostrar los resultados que se han obtenido del análisis de los lixiviados y suelos después del lavado tras la adición de las diferentes dosis de EDTA. Se va a exponer: la concentración de Pb en ambas matrices, el fraccionamiento del Pb en el suelo, cantidad de Pb que se ha conseguido extraer del suelo a partir de los datos de lixiviado y a partir de los datos de las fracciones del suelo antes y después del lavado.

4.2.1. Valores de pH y CE en los lixiviados y suelos.

En la Tabla 6 se muestran los datos obtenidos en la determinación del pH y la CE en los lixiviados para cada uno de los tratamientos, así como, los resultados del ANOVA de un factor (dosis de EDTA), para cada nivel de contaminación.

Tabla 6. Valores de pH y CE de los lixiviados, en función del nivel de contaminación y de la dosis de EDTA, y resultados de los ANOVA de la medida del pH y CE (dS m^{-1}) de los lixiviados según la dosis de EDTA para cada nivel de contaminación. Se adjunta para cada análisis el valor de P correspondiente. Para un mismo nivel de contaminación, las letras distintas indican la existencia de diferencias significativas entre dosis de EDTA. (media \pm desviación estándar, $n=2$)

C1	pH Lixiviado	CE (dS m^{-1}) Lixiviado	C2	pH Lixiviado	CE (dS m^{-1}) Lixiviado
E0	6,73 \pm 0,08 d	0,15 \pm 0,01 d	E0	6,85 \pm 0,09 cd	0,13 \pm 0,01 d
E1	7,19 \pm 0,04 c	0,33 \pm 0,00 c	E1	7,17 \pm 0,13 bc	0,41 \pm 0,04 c
E5	7,40 \pm 0,02 b	0,41 \pm 0,01 b	E5	7,44 \pm 0,13 ab	0,50 \pm 0,01 b
E10	7,64 \pm 0,06 a	0,57 \pm 0,01 a	E10	7,55 \pm 0,141 a	0,64 \pm 0,01 a
P	0,0003	< 0,0001	P	0,0155	< 0,0001

* E0, E1, E5 y E10 corresponden a las dosis de EDTA 0,1, 5 y 10 mmol kg^{-1} respectivamente

Los análisis revelan que existen diferencias significativas en función de la dosis de EDTA tanto entre los valores de pH ($P=0,0003$ para C1 y $P=0,0155$ para C2) como entre los valores de CE ($P<0,0001$ para C1 y C2) del lixiviado para ambos niveles de contaminación. Los valores de ambos parámetros van aumentando cuanto mayor es la dosis de EDTA añadida para ambos niveles de contaminación.

En la Tabla 7 se muestra los resultados obtenidos del análisis del pH y CE en los suelos tanto antes como después del lavado. Se ha realizado un análisis de la varianza para comprobar si los valores de ambas propiedades variaban con la dosis de EDTA.

Tabla 7. Valores de pH y CE de los suelos antes y después del proceso de lavado, y resultados ANOVA de la medida del pH y CE (dS m^{-1}) del suelo antes y después del lavado según la dosis de EDTA para cada nivel de contaminación. Se adjunta para cada análisis el valor de P correspondiente. Para un mismo nivel de contaminación, las letras distintas indican la existencia de diferencias significativas entre dosis de EDTA. (media \pm desviación estándar, $n=2$)

C1	pH suelo		CE (dS m^{-1}) suelo	
	Antes del lavado	Después del lavado	Antes del lavado	Después del lavado
E0	$7,51 \pm 0,14$	$7,39 \pm 0,05$	$0,29 \pm 0,09$	$0,25 \pm 0,00$
E1	$7,65 \pm 0,12$	$7,48 \pm 0,01$	$0,16 \pm 0,05$	$0,24 \pm 0,01$
E5	$7,77 \pm 0,08$	$7,58 \pm 0,09$	$0,21 \pm 0,07$	$0,23 \pm 0,03$
E10	$7,38 \pm 0,05$	$7,55 \pm 0,03$	$0,31 \pm 0,03$	$0,24 \pm 0,01$
P	0,0707	0,0640	0,1871	0,5332

C2	pH del suelo		CE (dS m^{-1}) suelo	
	Antes del lavado	Después del lavado	Antes del lavado	Después del lavado
E0	$7,52 \pm 0,19$	$7,46 \pm 0,01$	$0,13 \pm 0,01$	$0,22 \pm 0,00$
E1	$7,61 \pm 0,18$	$7,50 \pm 0,01$	$0,33 \pm 0,10$	$0,23 \pm 0,00$
E5	$7,64 \pm 0,06$	$7,43 \pm 0,10$	$0,27 \pm 0,04$	$0,24 \pm 0,01$
E10	$7,71 \pm 0,09$	$7,54 \pm 0,01$	$0,21 \pm 0,15$	$0,25 \pm 0,02$
P	0,6187	0,3026	0,2999	0,0765

* E0, E1, E5 y E10 corresponden a las dosis de EDTA 0,1, 5 y 10 mmol kg^{-1} respectivamente.

Los análisis ANOVA revelan que no existen diferencias significativas en los valores de pH y CE en función de la dosis de EDTA ni antes ni después del lavado. Además, observamos que ni el pH ni la CE del suelo no se han visto casi alterado por el tratamiento, con unos valores promedio de pH de $7,60 \pm 0,15$ antes del lavado y de $7,49 \pm 0,07$ después, y de CE de $0,24 \pm 0,09$ y $0,24 \pm 0,01$ dS m^{-1} , respectivamente, antes y después del lavado.

4.2.2. Concentración de Pb en los lixiviados.

En la Tabla 8 se muestra la concentración de Pb obtenido del análisis de los lixiviados recogidos para cada tratamiento. Para cada nivel de contaminación, la concentración de Pb en los lixiviados aumenta con la dosis de EDTA añadida, lo cual era esperable. Para

los tratamientos control, en los que no se ha adicionado EDTA, no se ha detectado Pb en los lixiviados.

Tabla 8. Concentración de Pb (mg L⁻¹) en el lixiviado según tratamiento empleado para cada nivel de contaminación (media \pm desviación estándar, n=2)

Tratamiento	Concentración Pb (mg L ⁻¹)
C1.0	ND
C1.1	23,10 \pm 0,23
C1.5	91,92 \pm 3,84
C1.10	112,57 \pm 2,10
C2.0	ND
C2.1	24,50 \pm 0,20
C2.5	112,02 \pm 0,36
C2.10	207,63 \pm 2,17

* C1 y C2 corresponden a las dosis de Pb de 1250 y 2500 mg kg⁻¹, respectivamente, y la numeración 0, 1, 5 y 10 a la dosis de EDTA (mmol kg⁻¹).

ND: No detectado

Se ha realizado un análisis de correlación entre la dosis de EDTA, concentración de Pb (mg L⁻¹), CE y pH en los lixiviados para cada nivel de contaminación, (Tabla 9). Los resultados muestran una correlación positiva entre todas las variables.

Tabla 9. Coeficientes correlación (Pearson) entre dosis de EDTA, CE, pH y concentración de Pb (mg L⁻¹) en los lixiviados según el nivel de contaminación

C1	EDTA	CE	Pb	pH	C2	EDTA	CE	Pb	pH
EDTA	1				EDTA	1			
CE	0,94	1			CE	0,88	1		
Pb	0,95	0,94	1		Pb	0,88	0,88	1	
pH	0,87	0,98	0,93	1	pH	0,85	0,99	0,91	1

* C1 y C2 corresponden a las dosis de Pb de 1250 y 2500 mg kg⁻¹, respectivamente.

4.2.3. Cantidad de Pb extraído en base al lixiviado.

La concentración de Pb en los lixiviados, el volumen de lixiviado y la cantidad de suelo lavado han permitido calcular la cantidad de Pb que se ha eliminado del suelo por lavado. En base a los datos sobre el contenido de Pb hallado en los lixiviados (Tabla 8), se ha calculado la cantidad de Pb que se ha extraído del suelo en mg kg⁻¹ (Figura 16).

El análisis de varianza de dos factores (dosis de Pb y dosis de EDTA) indicó la existencia de una interacción muy significativa entre ambos factores ($P < 0,0001$), por lo que se sometieron los datos a un doble análisis de la varianza para comprobar si existen diferencias en la cantidad de Pb extraído por lavado en función de la dosis de EDTA para el mismo nivel de contaminación y en función del nivel de contaminación para cada dosis de EDTA (Figura 16).

	E0	E1	E5	E10	P
C1	0,00	230,76 \pm 2,93 c	917,85 \pm 53,49 b	1124,97 \pm 28,80 a	< 0,0001
C2	0,00	244,58 \pm 2,69 c	1119,12 \pm 4,78 b	2074,23 \pm 31,28 a	< 0,0001
P	-	0,0391	0,0338	0,0010	

* C1 y C2 corresponden a las dosis de Pb de 1250 y 2500 mg kg⁻¹, respectivamente

E0, E1, E5 y E10 corresponden a las dosis de EDTA 0,1, 5 y 10 mmol kg⁻¹ respectivamente

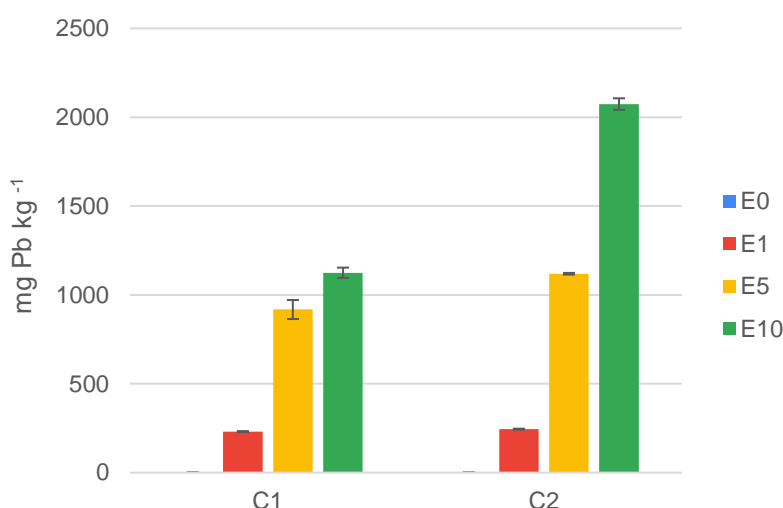


Figura 16. Concentración de Pb extraído (mg kg⁻¹) según los datos del lixiviado y análisis de la varianza para las distintas dosis de EDTA añadida y para cada nivel de contaminación. Se adjunta para cada análisis el valor de P correspondiente. Para un mismo nivel de contaminación, las letras distintas indican la existencia de diferencias significativas entre dosis de EDTA.

Los análisis revelan que tanto el nivel de contaminación como la dosis de EDTA añadida tienen un efecto significativo sobre la cantidad de Pb extraída por lavado. La cantidad de Pb extraído para un mismo nivel de contaminación va aumentando en función de la cantidad de EDTA añadido al suelo, aunque para el nivel bajo de contaminación (C1, 1250 mg Pb kg⁻¹), la diferencia en la cantidad de Pb lavada entre la dosis de EDTA de

5 y 10 mmol kg⁻¹ es mucho menor que para el nivel alto de contaminación (C2, 2500 mg Pb kg⁻¹). También se observa como la cantidad de Pb que se puede extraer depende del nivel de contaminación debido a que existen ciertas diferencias entre el Pb extraído con la misma dosis de EDTA para C1 y C2. También se observa como estas diferencias entre C1 y C2 son mínimas para dosis bajas de EDTA y se van incrementando a medida que se va aumentando la dosis de quelante.

Se ha calculado el porcentaje de Pb extraído del suelo como cociente entre la cantidad de Pb lavada y la concentración total de Pb en el suelo antes del lavado, ambas cantidades en mg kg⁻¹, y se ha expresado este cociente de forma porcentual. Al igual que en el caso de las cantidades de Pb extraídas por lavado, el ANOVA de dos factores ha mostrado una interacción fuertemente significativa entre el nivel de contaminación y la dosis de EDTA ($P = 0,0001$), por lo que estos porcentajes de extracción han sido sometidos a un doble análisis de la varianza para, por un lado determinar si hay diferencias significativas entre las dosis de EDTA para un mismo nivel de contaminación, y por el otro, para comprobar si existen diferencias entre el Pb extraído en C1 y C2 para la misma dosis de EDTA (Figura 17).

	E0	E1	E5	E10	P
C1	0,00	19,38 ± 0,38 c	76,09 ± 5,38 b	88,17 ± 4,32 a	< 0,0001
C2	0,00	10,12 ± 0,45 c	48,92 ± 1,4 b	92,17 ± 1,05 a	< 0,0001
P	-	0,0020	0,0203	0,3313	

* C1 y C2 corresponden a las dosis de Pb de 1250 y 2500 mg kg⁻¹, respectivamente

E0, E1, E5 y E10 corresponden a las dosis de EDTA 0,1, 5 y 10 mmol kg⁻¹ respectivamente

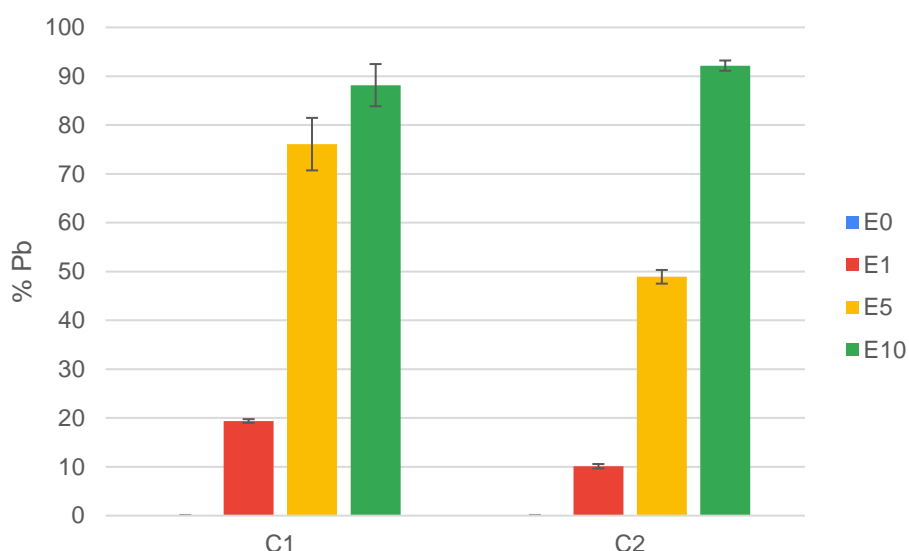


Figura 17. Distribución del Pb extraído (%) según los datos del lixiviado y análisis de la varianza para las distintas dosis de EDTA añadida y para cada nivel de contaminación. Se adjunta para cada análisis el valor P correspondiente. Para un mismo nivel de contaminación, las letras distintas indican la existencia de diferencias significativas entre dosis de EDTA.

Los resultados revelan que existen diferencias significativas entre dosis de quelante en los dos niveles de contaminación estudiados. Sin embargo, una vez más, se aprecia como las diferencias en el porcentaje de Pb extraído entre la dosis 5 y 10 mmol kg⁻¹ no son tan pronunciadas para el nivel bajo de contaminación (C1, con valores promedio del 76% y 88% respectivamente) como para el nivel alto de contaminación (C2, con valores promedio del 49% y 92% respectivamente). Esto sugiere que, para el nivel bajo de contaminación, la extracción de Pb deja de aumentar linealmente conforme se va aumentando la dosis de EDTA a partir de 5 mmol kg⁻¹.

Por otro lado, resulta también destacable la ausencia de diferencias significativas en función del nivel de contaminación para la dosis mayor de EDTA (P=0,3313), con unos porcentajes de extracción de Pb que se sitúan alrededor del 90% de la cantidad presente en el suelo en ambos casos.

Para comprender más a fondo el efecto de la dosis de EDTA utilizada para el lavado en la cantidad de Pb que se puede extraer por lavado, se ha realizado un análisis de regresión para cada uno de los niveles de contaminación, tomando la dosis de EDTA como variable independiente y la cantidad de Pb extraída por lavado, como porcentaje respecto al contenido de Pb del suelo, como variable dependiente (Figura 18).

Para el nivel C1, la R^2 es más baja y se aprecia como los datos presentan una tendencia que se asemeja más a una curva logarítmica o polinomial, esto indica que, a partir de cierta concentración de quelante, aplicar una mayor dosis de EDTA no implica que la eficacia de la extracción vaya a aumentar, sino que tenderá a 0.

Lo contrario pasa con el nivel de contaminación C2, donde la R^2 es de casi 1 y se aprecia como la cantidad de Pb extraído aumenta de manera lineal con la dosis de quelante.

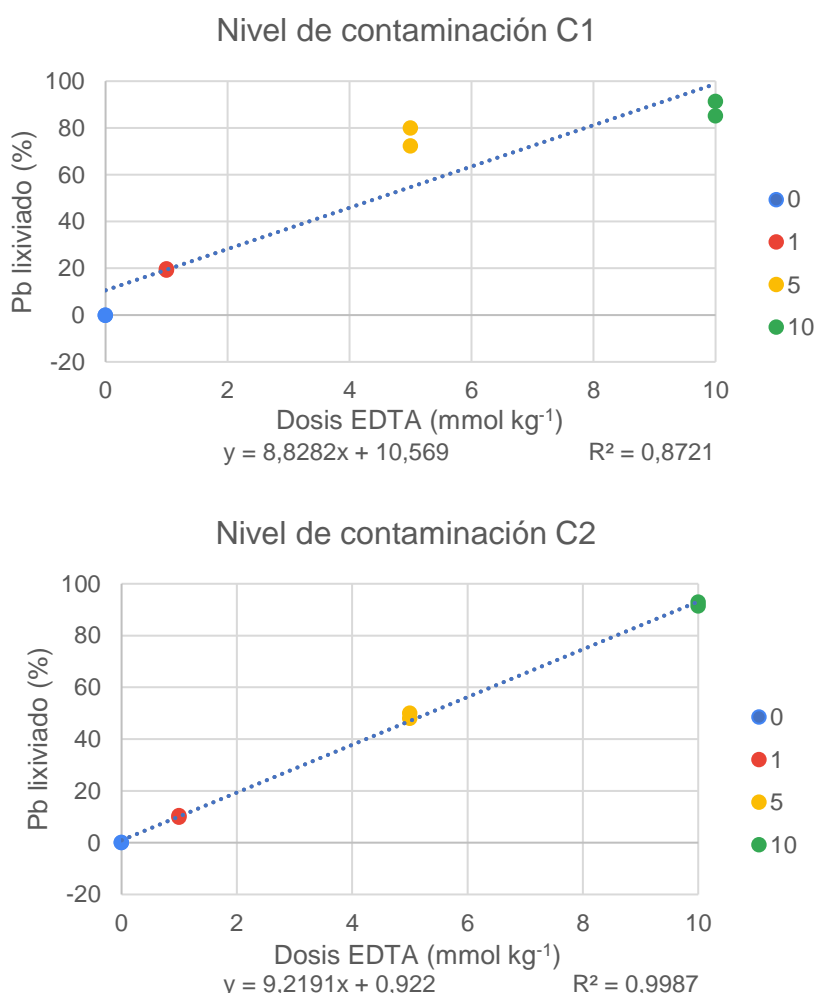


Figura 18. Resultados del análisis de regresión lineal entre % Pb extraído según el lixiviado y dosis de EDTA (0,1,5 y 10 mmol kg⁻¹) para el nivel de contaminación C1 y C2

4.2.4. Fraccionamiento y contenido total de Pb en el suelo tras el lavado.

En la Tabla 10 se muestran las concentraciones de Pb (mg kg^{-1}) en cada una de las fracciones del suelo tras el lavado, en función de la dosis de EDTA añadida al suelo. La concentración total de Pb que ha quedado en el suelo (no solubilizado) se ha calculado mediante la suma de las concentraciones de cada una de las fracciones.

Una vez más, el ANOVA de tres factores (nivel de contaminación, dosis de EDTA y fracción) ha mostrado una interacción significativa, por lo que estos análisis se han separado por niveles de contaminación y han sido sometidos a un doble análisis de varianza para determinar si hay diferencias entre las fracciones para una misma dosis de EDTA (datos en filas) y también para comprobar si hay diferencias en la concentración de Pb entre dosis de quelante para cada una de las fracciones (datos en columnas).

Tabla 10. Concentración de Pb (mg kg^{-1}) y análisis de la varianza de las fracciones en función del tratamiento después del lavado. Se adjunta para cada análisis el valor de P correspondiente. Para un mismo tratamiento (filas), las letras minúsculas distintas indican la existencia de diferencias significativas entre fracciones. Para una misma fracción (columnas) las letras mayúsculas distintas indican la existencia de diferencias significativas entre dosis de EDTA. La concentración total de Pb se muestra en mg kg^{-1} .

C1	F1 Intercambiable	F2 Carbonatos	F3 Óxidos de Fe-Mn	F4 MO	F5 Residual	P	Total
E0	26,66 ± 17,22 dA	688,74 ± 42,94 aA	342,61 ± 14,21 bA	227,99 ± 25,70 cA	57,66 ± 5,93 dA	< 0,0001	1343,64 ± 30,51
E1	8,71 ± 0,91 dA	577,02 ± 45,56 aB	335,87 ± 16,12 bA	190,98 ± 6,89 cA	54,87 ± 1,97 dA	< 0,0001	1167,44 ± 13,91
E5	6,79 ± 0,00 eA	218,89 ± 18,76 aC	184,77 ± 11,42 bB	98,86 ± 4,94 cB	49,99 ± 0,98 dA	< 0,0001	559,28 ± 24,14
E10	6,16 ± 2,72 dA	148,19 ± 6,19 aC	147,14 ± 13,36 aCB	86,29 ± 8,92 bB	49,99 ± 1,01 cA	< 0,0001	437,76 ± 14,03
P	0,1975	0,0002	0,0003	0,0014	0,1713		

C2	F1 Intercambiable	F2 Carbonatos	F3 Óxidos de Fe-Mn	F4 MO	F5 Residual	P	Total
E0	38,21 ± 0,91 dA	1353,40 ± 4,27 aA	491,88 ± 61,70 bA	313,94 ± 22,66 cA	69,55 ± 4,93 dA	< 0,0001	2266,97 ± 65,52
E1	37,55 ± 9,05 dA	1242,62 ± 0,27 aB	497,81 ± 53,10 bA	274,07 ± 27,70 cA	59,06 ± 0,01 dBC	< 0,0001	2111,11 ± 24,16
E5	18,97 ± 2,72 dBC	783,52 ± 26,61 aC	381,01 ± 30,55 bAB	204,26 ± 13,87 cB	56,97 ± 2,96 dCD	< 0,0001	1444,74 ± 8,59
E10	7,44 ± 0,91 eC	341,31 ± 4,41 aD	269,89 ± 9,91 bB	137,95 ± 8,91 cC	52,08 ± 0,01 dDB	< 0,0001	808,66 ± 10,84
P	0,0073	< 0,0001	0,0177	0,0031	0,0155		

* C1 y C2 corresponden a las dosis de Pb de 1250 y 2500 mg kg^{-1} , respectivamente.

E0, E1, E5 y E10 corresponden a las dosis de EDTA 0,1, 5 y 10 mmol kg^{-1} respectivamente.

Se observa cómo tras el lavado la cantidad de Pb que se asocia a la fracción de los carbonatos sigue siendo la más abundante, seguida por la asociada a los óxidos de Fe-Mn y por la de la MO. La fracción intercambiable y la residual siguen siendo la que menos cantidad de Pb tienen asociada.

Del análisis de la varianza podemos señalar que entre fracciones existen diferencias significativas para una misma dosis de EDTA. Mientras que, para la misma fracción, el análisis nos muestra que existen diferencias significativas entre el uso de distintas dosis del quelante salvo para la F1 y la F5 en C1 en la que no existen diferencias.

Se ha calculado también el porcentaje que corresponde a la contribución de cada una de las fracciones sobre el total de la concentración del metal después del lavado. Al igual que en caso anterior, los datos se han separado por niveles de contaminación y se ha realizado un doble análisis de la varianza para determinar las similitudes o diferencias entre la distribución de las fracciones para el mismo tratamiento y también para distintos tratamientos sobre la misma fracción (Tabla 11).

Tabla 11. Distribución del Pb (%) por fracciones y análisis de la varianza en función del nivel de contaminación después del lavado. Se adjunta para cada análisis el valor de P correspondiente. Para un mismo tratamiento (filas), las letras minúsculas distintas indican la existencia de diferencias significativas entre fracciones. Para una misma fracción (columnas) las letras mayúsculas distintas indican la existencia de diferencias significativas entre dosis de EDTA.

C1	%F1	%F2	%F3	%F4	%F5	P
E0	2,01 ± 1,35 dA	51,24 ± 1,55 aA	25,53 ± 1,88 bA	16,95 ± 1,37 cA	4,29 ± 0,30 dA	< 0,0001
E1	0,75 ± 0,09 dA	49,40 ± 3,07 aA	28,79 ± 1,86 bA	16,37 ± 0,87 cA	4,71 ± 0,25 dA	< 0,0001
E5	1,22 ± 0,80 eA	39,11 ± 0,97 aBC	33,04 ± 0,02 bBC	17,68 ± 0,20 cA	8,96 ± 0,72 dB	< 0,0001
E10	1,40 ± 0,56 dA	33,92 ± 2,95 aC	33,58 ± 1,53 aC	19,69 ± 1,15 bA	11,43 ± 0,29 cC	< 0,0001
P	0,4754	0,0045	0,0173	0,0984	0,0002	
C2	%F1	%F2	%F3	%F4	%F5	P
E0	1,69 ± 0,11 dA	59,75 ± 2,26 aA	21,66 ± 1,84 bA	13,84 ± 0,44 cA	3,07 ± 0,09 dA	< 0,0001
E1	1,78 ± 0,40 dA	58,87 ± 0,96 aAB	23,56 ± 2,14 bA	12,99 ± 1,52 cA	2,80 ± 0,042 dA	< 0,0001
E5	1,31 ± 0,20 dA	54,25 ± 2,30 aB	26,37 ± 1,89 bA	14,14 ± 0,84 cA	3,95 ± 0,23 dB	< 0,0001
E10	0,92 ± 0,10 eA	42,22 ± 1,34 aC	33,37 ± 0,59 bB	17,05 ± 0,78 cA	6,45 ± 0,12 dC	< 0,0001
P	0,0668	0,0020	0,0089	0,0508	< 0,0001	

* C1 y C2 corresponden a las dosis de Pb de 1250 y 2500 mg kg⁻¹, respectivamente

E0, E1, E5 y E10 corresponden a las dosis de EDTA 0,1, 5 y 10 mmol kg⁻¹ respectivamente

Se observa como la fracción más representativa sigue siendo la de los carbonatos frente al resto, disminuyendo este porcentaje conforme va aumentando la dosis de EDTA. Esto es debido a que la cantidad de Pb ha ido disminuyendo en esta fracción de manera considerable. Esta disminución en la F2 explica cómo para el resto de fracciones (exceptuando F1), la distribución del Pb aumente con la dosis de EDTA.

Los resultados del ANOVA revelan que siguen existiendo diferencias significativas entre las fracciones para una misma dosis de EDTA salvo entre F1 y F5 para las dosis de 0 y 1 mmol kg⁻¹ (en C1) y 0, 1 y 5 mmol kg⁻¹ (en C2).

Por otro lado, se observa que la dosis de EDTA no causa diferencias en la distribución del Pb en las fracciones F1 y F4 de ambos niveles de contaminación. Las fracciones que presentan diferencias significativas entre dosis de EDTA son la F2, F3 y F5.

Cabe destacar que la dosis alta de EDTA (10 mmol kg⁻¹) es la única que ha generado cambios importantes en la distribución del Pb entre las fracciones F2, F3 y F5. Mientras que, entre dosis bajas de EDTA (0 y 1 mmol kg⁻¹) no existen diferencias significativas en ninguna de las fracciones.

4.2.5. Variación con el lavado de la distribución de Pb en las fracciones del suelo.

En la Figura 19 se compara gráficamente el contenido en Pb (mg kg⁻¹) de cada una de las fracciones del suelo, antes y después del lavado, para cada uno de los tratamientos (niveles de contaminación y dosis de EDTA) empleados.

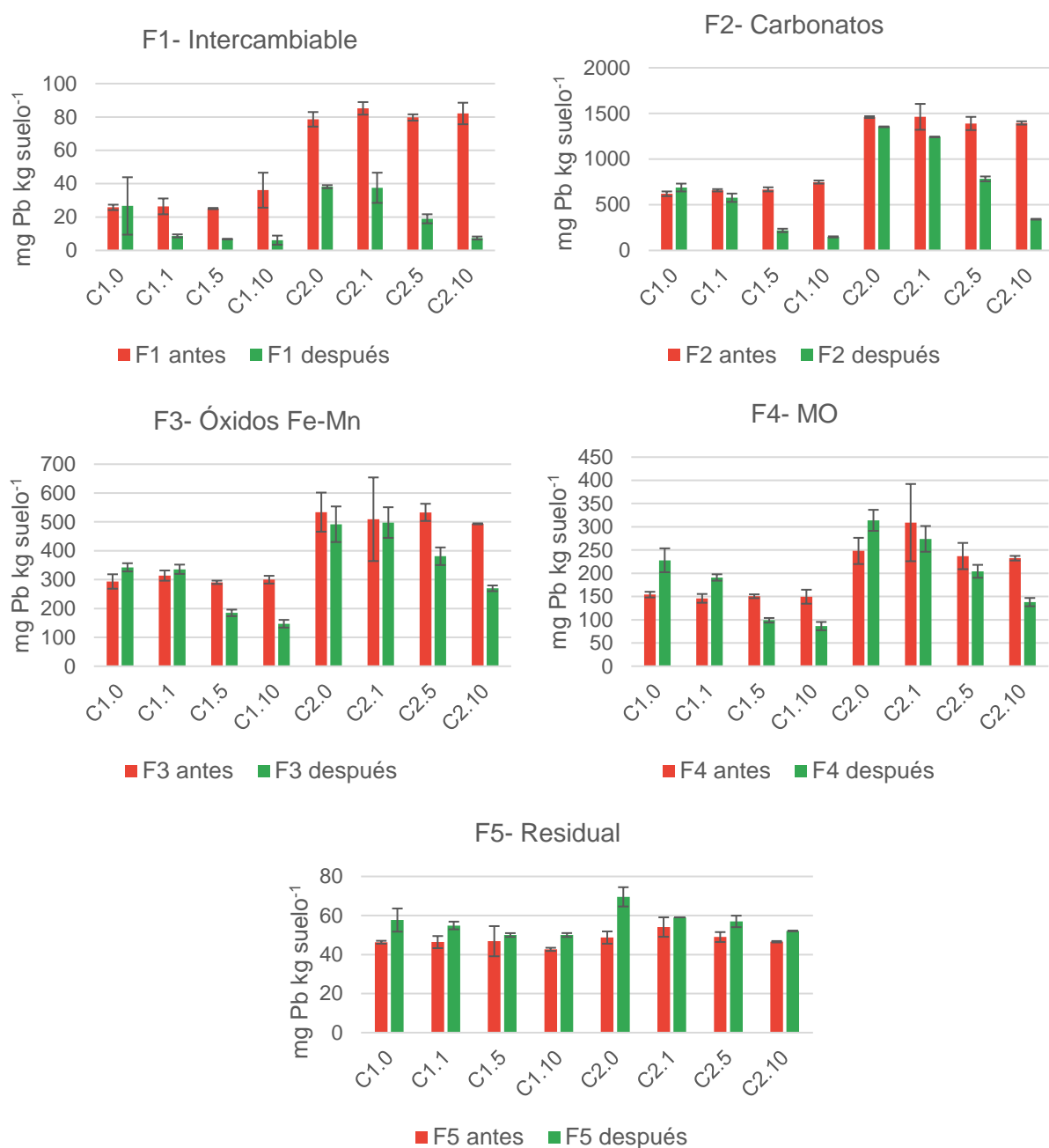


Figura 19. Comparativa de la concentración de Pb (mg kg⁻¹) antes y después del lavado para cada una de las fracciones en función del tratamiento de EDTA empleado.

*C1 y C2 corresponden a las dosis de Pb de 1250 y 2500 mg kg⁻¹, respectivamente. 0,1, 5 y 10 mmol kg⁻¹ se corresponden con las dosis de EDTA.

Tanto en la F1 como en la F2 se observa como claramente la cantidad de Pb ha disminuido considerablemente con el aumento de la dosis de EDTA. La F3 y la F4 también presentan una reducción de Pb sin embargo no es tan considerable como en

las primeras dos fracciones y, sobre todo en el caso de la F4, apreciable solamente en dosis altas de EDTA. Finalmente, en la fracción F5 el aporte de EDTA no parece tener ningún efecto significativo sobre la cantidad de Pb que contiene, ya que se observa un ligero incremento en esta fracción, causado por la reducción de las otras fracciones.

4.2.6. Cantidad de Pb extraído en base a los análisis del suelo.

En este último apartado, se ha calculado la cantidad de Pb extraído del suelo ($\text{mg Pb kg}^{-1}\text{suelo}$), para cada uno de los tratamientos, teniendo en cuenta la diferencia en la concentración de Pb en el suelo, antes y después del lavado. Los resultados se muestran en la Tabla 12. El ANOVA de dos factores (nivel de contaminación y dosis de EDTA) sobre la cantidad de Pb extraída ha mostrado una interacción fuertemente significativa ($P = 0,0021$), por lo que los resultados han sido tratados mediante un doble análisis de la varianza para ver las diferencias entre dosis de EDTA para un mismo nivel de contaminación (Tabla 12, datos en filas) y para la misma dosis de quelante entre ambos niveles de contaminación (datos en columnas).

Tabla 12. Concentración de Pb extraído (mg kg^{-1}) y análisis de la varianza según la dosis empleada de y para cada nivel de contaminación. Se adjunta para cada análisis el valor de P correspondiente. Para un mismo nivel de contaminación, las letras distintas indican la existencia de diferencias significativas entre dosis de EDTA.

	E0	E1	E5	E10	P
C1	$0,00 \pm 0,00$ d	$32,49 \pm 45,94$ c	$622,37 \pm 9,96$ b	$838,94 \pm 10,05$ a	< 0,0001
C2	$102,29 \pm 11,87$ d	$309,04 \pm 46,91$ c	$844,15 \pm 63,07$ b	$1441,80 \pm 23,50$ a	< 0,0001
P	0,0067	0,0270	0,0390	0,0009	

* C1 y C2 corresponden a las dosis de Pb de 1250 y 2500 mg kg^{-1} , respectivamente

E0, E1, E5 y E10 corresponden a las dosis de EDTA 0,1, 5 y 10 mmol kg^{-1} respectivamente

Los resultados muestran que tanto para C1 como para C2 todas las dosis empleadas extraen cantidades diferentes de Pb, que aumentan cuanto mayor es la dosis de EDTA. Cabe destacar, sin embargo, que las cantidades de Pb extraídas del suelo entre las dosis de 5 y 10 mmol kg^{-1} de EDTA son mucho más distintas en C2 que en C1, lo que indica una mayor eficacia del quelante para el suelo más contaminado. Entre niveles de contaminación para la misma dosis de EDTA, vemos que también existen diferencias significativas en cuanto a cantidad de Pb extraído, que es siempre mayor en C2 que en C1.

Se ha calculado el porcentaje de Pb extraído con respecto a la cantidad de Pb total en suelo que había antes del lavado para cada uno de los tratamientos. Una vez más, el

ANOVA de dos factores ha mostrado una interacción muy significativa ($P = 0,0004$), por lo que, como en el caso anterior, se ha realizado un doble análisis de la varianza de estos datos para evaluar la existencia de diferencias entre ellos en función de la dosis de EDTA para un mismo nivel de contaminación, y en función del nivel de contaminación, para cada dosis de EDTA (Tabla 13).

Tabla 13. Contenido porcentual de Pb extraído y análisis de la varianza según la dosis empleada de EDTA y para cada nivel de contaminación. Se adjunta para cada análisis el valor de P correspondiente. Para un mismo nivel de contaminación, las letras distintas indican la existencia de diferencias significativas entre dosis de EDTA.

	E0	E1	E5	E10	P
C1	0,00 ± 0,00 d	2,67 ± 3,77 c	52,69 ± 1,92 b	65,72 ± 0,75 a	< 0,0001
C2	4,31 ± 0,31 d	12,75 ± 1,51 c	36,86 ± 1,55 b	64,07 ± 0,71 a	< 0,0001
P	0,0026	0,0724	0,0119	0,1685	

* C1 y C2 corresponden a las dosis de Pb de 1250 y 2500 mg kg⁻¹, respectivamente

E0, E1, E5 y E10 corresponden a las dosis de EDTA 0,1, 5 y 10 mmol kg⁻¹ respectivamente

Se observa como existen diferencias significativas entre todos los tratamientos para ambos niveles de contaminación. Sin embargo, cabe destacar una vez más que entre la dosis 5 y 10 para el C1 la extracción de Pb en el suelo parece no aumentar tan notablemente como se aprecia entre otras dosis, esto sugiere que para el nivel de contaminación bajo aumentar la dosis de EDTA de 5 a 10 mmol kg⁻¹ no implica un aumento tan relevante de la eficacia de la extracción.

Para analizar con más detalle el efecto de la dosis de EDTA sobre la cantidad de Pb extraída se ha realizado un análisis de la regresión (Figura 20) tomando como variable independiente la dosis de EDTA y como dependiente la cantidad porcentual de Pb extraída por lavado, calculada a partir de los análisis del suelo antes y después del lavado. En el análisis para C1, se puede ver como la eficacia de la extracción entre 1 y 5 mmol kg aumenta linealmente, mientras que de 5 a 10 mmol kg⁻¹ la eficacia aumenta de un modo mucho más moderado.

Sin embargo, el análisis para C2 muestra que la eficacia de extracción aumenta de forma lineal cuanto mayor es la dosis de EDTA añadida, lo que sugiere que en este suelo todavía se podría añadir una mayor dosis de EDTA para lavarlo.

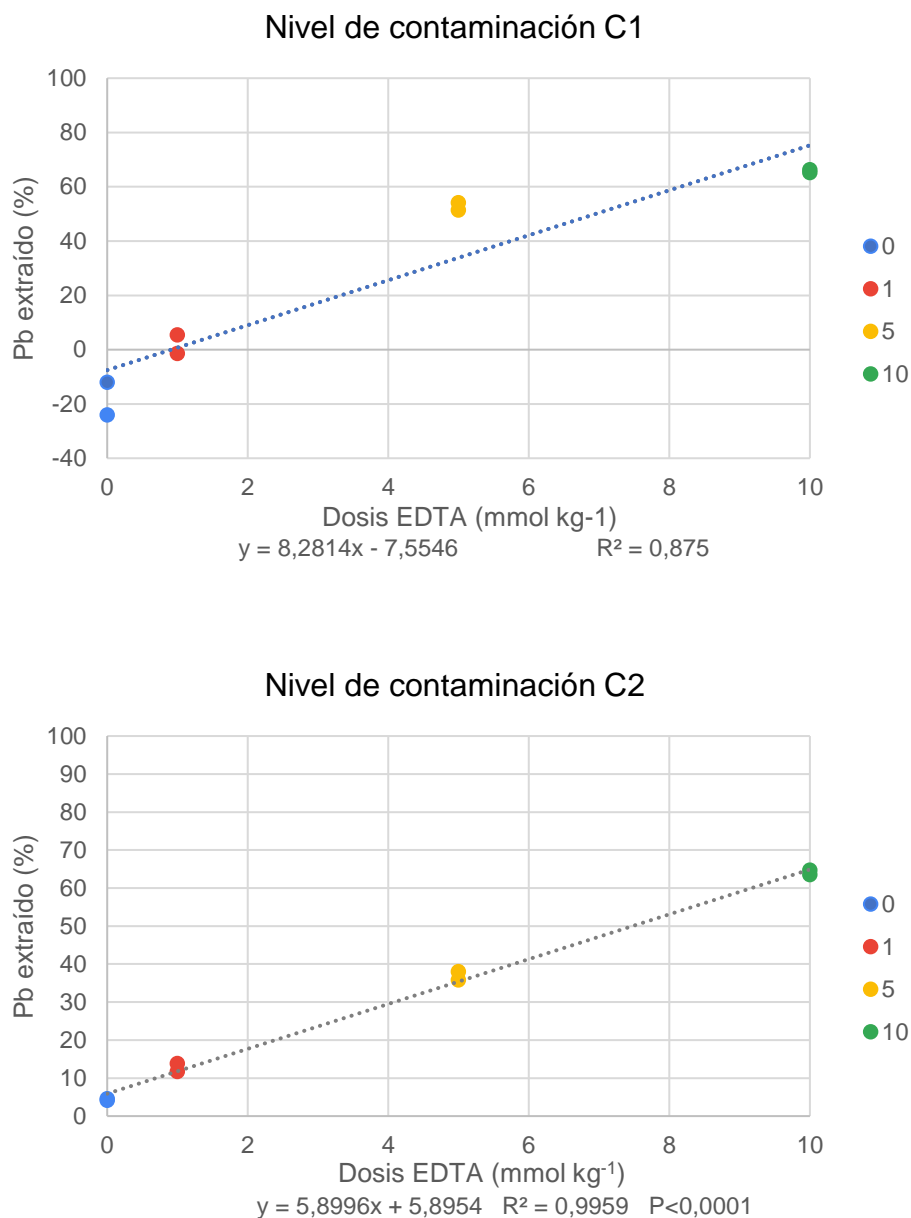


Figura 20. Resultados del análisis de regresión lineal entre % Pb extraído según las fracciones y dosis de EDTA (0,1,5 y 10 mmol kg⁻¹) para el nivel de contaminación C1 y C2

Finalmente se ha realizado una evaluación de la cantidad de Pb que se ha extraído de cada una de las fracciones. Estos datos se han obtenido a partir de la diferencia entre la cantidad de Pb en cada fracción antes y después del lavado, dividida por la cantidad de Pb en la misma fracción antes del lavado, y expresados como porcentaje. Es decir, estos valores muestran qué proporción del Pb contenido en cada una de las distintas fracciones del suelo contaminado se ha eliminado por lavado.

Los datos se han sometido a ANOVA de dos factores (nivel de contaminación y dosis de EDTA), y se han analizado separadamente para cada una de las fracciones (F1 a F5). En todos los casos, el factor nivel de contaminación ha resultado no significativo (con valores de P de 0,2646, 0,5624, 0,6343, 0,2012 y 0,4861 para las fracciones F1 a F5, respectivamente. Por ello, el factor nivel de contaminación ha sido eliminado de los ANOVA (Tabla 14).

Tabla 14. Cambio porcentual en el contenido de Pb en cada una de las fracciones como consecuencia del lavado y análisis de la varianza de los resultados obtenidos por cada una de las fracciones según la dosis empleada de EDTA. Se adjunta para cada análisis el valor de P correspondiente. Para una misma fracción, las letras distintas indican la existencia de diferencias significativas entre dosis de EDTA.

	E0	E1	E5	E10	P
% F1 Intercambiable	24,97 ± 46,28 b	60,90 ± 10,95 ab	74,54 ± 2,96 a	87,16 ± 4,67 a	0,0174
% F2 Carbonatos	-2,00 ± 12,65 c	13,47 ± 7,04 c	55,40 ± 14,04 b	77,87 ± 2,78 a	< 0,0001
% F3 Óxidos Fe-Mn	-4,55 ± 14,63 b	-5,21 ± 23,10 b	32,36 ± 7,52 a	48,03 ± 5,14 a	0,0003
% F4 MO	-37,29 ± 13,94 b	-12,07 ± 29,38 b	23,98 ± 12,31 a	41,49 ± 1,75 a	0,0001
% F5 Residual	-33,61 ± 12,30 b	-14,05 ± 8,00 a	-12,36 ± 12,48 a	- 14,52 ± 3,12 a	0,0297

* E0, E1, E5 y E10 corresponden a las dosis de EDTA 0,1, 5 y 10 mmol kg⁻¹ respectivamente

Según los datos que se muestran en esta tabla, la fracción que ha tenido una mayor eficacia porcentual de extracción es la F1 con un máximo del 87% de extracción en la mayor dosis de EDTA. La F2, aunque ha sido la fracción que más cantidad de Pb ha conseguido extraer en valor absoluto (mg kg⁻¹), se encuentra en segundo lugar, con un 78% de eficacia también en la mayor dosis de EDTA. Para el resto de fracciones el tratamiento con EDTA no ha sido tan efectivo con un 48 y 41% como valores máximos para la F3 y la F4 respectivamente. Aun teniendo un alto contenido de materia orgánica, el EDTA no parece haber conseguido alterar mucho el Pb contenido en la F4. Resulta particularmente destacable que para la F5 todos los valores que se han obtenido son negativos, lo que no indica necesariamente que esta fracción se enriquezca en Pb, sino que la extracción de Pb en las otras fracciones aumenta proporcionalmente la cantidad de Pb en esta fracción residual.

Tiene también interés la comparación de los datos que se muestran en la Tabla 10 entre las distintas dosis de EDTA. Para la dosis 0, es decir, la extracción solamente con agua se observa que se extrae solamente una cuarta parte del Pb localizado en la fracción intercambiable (y soluble), mientras que al añadir incluso una pequeña dosis de EDTA,

1 mmol kg⁻¹, la extracción en la fracción intercambiable es ya mucho mayor, y empieza ya la extracción de la fracción asociada a los carbonatos. Se observa también que la extracción de Pb asociado a la materia orgánica se produce solamente a partir de los 5 mmol EDTA kg⁻¹.

Del estudio de la varianza cabe destacar que las diferencias son inexistentes entre la dosis 0 y la 1 para todas las fracciones exceptuando la F5. En la F1, el efecto de la dosis de EDTA no parece afectar mucho a la efectividad de extracción del Pb sin embargo para la F2 sí que parece ser bastante significativo.

5. DISCUSIÓN

5.1. El suelo objeto de estudio.

El pH se considera como uno de los principales factores que regulan la disponibilidad de los metales. El Pb, así como la mayoría de metales, tienden a presentar una mayor solubilidad, y por tanto mayor disponibilidad, en el suelo a pH ácido (Galán & Romero, 2008). Que el suelo objeto de estudio tenga un pH ligeramente básico (7,6) indica que el Pb va a estar poco disponible para las plantas ya que a estos valores se produce su precipitación como hidróxidos (Khanlari & Lalali, 2008). Además, la presencia de carbonatos (19,90%) garantiza que el pH se mantenga alto y sugiere que parte del Pb pueda quedar fuertemente adsorbido, ya que el radio iónico de este es bastante parecido al del Ca²⁺ y va a favorecer su precipitación como PbCO₃ (Comaschi et al., 2011).

Otro de los componentes edáficos que contribuye a la regulación de la movilidad del Pb en el suelo es la materia orgánica (Lee et al., 1998; Gustafsson et al., 2011; Diagboya et al., 2015), ya sea por adsorción o porque es capaz de formar quelatos muy estables con éste, reduciendo su movilidad. La gran estabilidad de los complejos formados entre el Pb y la materia orgánica estable hace que este metal persista en sus posiciones de cambio (Ponizovskii & Mironenko, 2001; Sipos et al., 2005). El elevado contenido de materia orgánica de nuestro suelo (8,2%), implica pues que este componente va a contribuir a inmovilizar una parte significativa del Pb.

Los suelos arcillosos, y más aún cuando su contenido en MO es relativamente elevado, suelen presentar valores elevados de CIC (Weil & Brady, 2017), por lo que van a retener los metales por adsorción en el complejo de cambio (Hooda & Alloway, 1998; Costa et al., 2017). Por ello, puede considerarse que este suelo, aun presentando bastante

cantidad de arenas (40%), tiene una cantidad de arcillas (textura franco-arcillosa) lo suficientemente elevada (36%) para que una proporción apreciable del Pb quede retenida por adsorción, lo que limita su movilización. Además, Martínez-Villegas et al. (2004) demostraron que la cantidad de Pb que podía ser adsorbido en el CIC depende positivamente del pH del suelo, lo que en nuestro caso contribuye aún más a la adsorción del Pb.

Manousaki & Kalogerakis (2009) demostraron que valores elevados en la salinidad del suelo podrían incrementar la movilidad del Pb, fundamentalmente por la reducción en las cantidades adsorbidas, causada por la competencia con las sales solubles. Resultados similares han sido reportados por Acosta et al., (2011), Falahati et al., (2013), Khodaverdiloo et al. (2014) y Zhang et al., (2015), por citar algunos ejemplos. En el suelo objeto de estudio, los valores de salinidad de $0,24 \pm 0,09$ dS m⁻¹ en el extracto 1:5, sugieren que la presencia de sales solubles no ejercerá el efecto movilizador del Pb que la bibliografía reporta para valores mucho más elevados de salinidad.

En cuanto a la distribución del Pb en las diferentes fracciones del suelo (antes del lavado) para los 2 niveles de concentración, los resultados mostraron el siguiente orden: carbonatos >> óxidos Fe-Mn > MO > residual \approx intercambiable.

Finzgar et al. (2007), llevaron a cabo un estudio sobre la correlación entre las propiedades del suelo y cómo se distribuye el Pb entre las fracciones. Se observó cómo la proporción de Pb asociada a los carbonatos (F2) estaba relacionada con el contenido en carbonatos y con la cantidad de Pb total. La proporción de Pb asociado a la MO (F4) era menor en los suelos con un alto contenido en carbonatos y curiosamente no dependía tanto del contenido de MO. La proporción de Pb en la fracción residual (F5) incrementaba cuando había una mayor concentración del Pb total, aunque también estaba correlacionado con el contenido en MO. Hallaron también que el Pb asociado a los óxidos de Fe y Mn (F3) estaba correlacionado positivamente con el pH.

En nuestro suelo, de acuerdo con Finzgar et al. (2007), se ha podido observar como una gran cantidad de Pb (59%) se ha asociado a la F2 (carbonatos) influenciado por la elevada presencia de carbonatos en el suelo.

Estudios previos realizados en la EPS sobre dos suelos calizos contaminados artificialmente (2 meses incubación) pero de distinta procedencia (suelo industrial (Vaquero, 2019) y suelo agrícola (Sarría, 2020)), revelaron que el Pb se encuentra

asociado mayormente a los carbonatos. En ambos estudios se sugiere que el tiempo de maduración al que se ha sometido el suelo tras su dopaje es indicativo de que vayamos a encontrar una mayor o menor cantidad de Pb asociado a los carbonatos en este tipo de suelos. El tiempo requerido para que una mayor cantidad de Pb se asocie a la MO (F4) o precipite en la fracción residual mineral (F5) es mayor, por lo que la precipitación del Pb en forma de hidróxidos o asociado a los carbonatos podría constituir una vía rápida y eficaz de insolubilización del Pb en suelos calizos y, desde un punto de vista experimental, sugiere que el tiempo de envejecimiento del suelo también podría ser un importante factor a tener en cuenta a la hora de evaluar la distribución del Pb.

Según Cortés et al. (2016), el incremento del tiempo de incubación (60 y 90 días), permitió la interacción de los metales con los diferentes componentes de los suelos y la reducción de su movilidad por mecanismos como la formación de complejos estables y/o el incremento de proporción asociada a la capacidad de intercambio catiónico en el suelo. En dicho estudio se trabajó con dos suelos, uno ácido (alto contenido en MO) y otro básico (bajo contenido MO). Los resultados mostraron que tanto el Pb como otros metales, se asocian mayoritariamente a las fracciones F4 (MO) y F5 (residual), aunque no se aprecia una relación clara del tiempo de maduración con la fracción en la que se insolubilizan los metales.

En el estudio de Ferreyroa et al., en 2014, se observa como el Pb soluble añadido a un suelo y sometido a un periodo relativamente corto de maduración (60 días) evoluciona hacia fracciones menos lábiles. En línea con lo expuesto, en nuestro estudio hemos encontrado un porcentaje de Pb relativamente bajo en la fracción intercambiable-soluble F1 (2% en C1 y 3% en C2) tras un proceso de maduración de un mes y medio, que ha migrado principalmente hacia la fracción carbonatada (F2) y la de óxidos Fe-Mn (F3). Sin embargo, nuestros datos no permiten dilucidar si un mayor tiempo de maduración hubiera permitido la migración del Pb en mayor proporción hacia las fracciones F4 y F5.

Aparte del tiempo de maduración (1,5 meses), en nuestro estudio, otra posibilidad de que se haya asociado una menor cantidad de Pb a la F4, a pesar del elevado contenido en materia orgánica del suelo (8,2%), es la presencia de gran parte de esta como materia orgánica fresca, la cuál va a ser poco reactiva y con escasa capacidad de intercambio catiónico.

La evaluación, pues, de las principales características del suelo objeto de estudio sugiere que el Pb en este tipo de suelo quedará fuertemente retenido,

fundamentalmente por precipitación en forma de óxidos, hidróxidos y carbonatos, así como adsorbido en el complejo de intercambio catiónico. Ello explica por qué tras el lavado sólo con agua (C1.0 y C2.0), el Pb que se ha conseguido extraer es nulo para el caso del C1 y mínimo para el caso de C2, lo que sugiere la necesidad de recurrir a compuestos quelantes en este tipo de suelos.

5.2. El uso del EDTA como facilitador del lavado.

El EDTA presenta la habilidad de incrementar la concentración de metales en solución, liberando estos metales de las fases sólidas del suelo y formando complejos que pasan a la solución del suelo (Saifullah et al., 2009). En el estudio de Nascimento (2006), se observó como el EDTA era capaz de solubilizar hasta un 77% del Pb presente en el suelo (500 mg kg⁻¹ de Pb en el suelo).

El uso del EDTA, además de solubilizar una cantidad importante de metales, ocasiona también cambios en su distribución en el suelo. En un estudio llevado a cabo por Jalali & Khanlari en 2007 sobre la solubilización de metales y su redistribución en las fracciones empleando EDTA, se observó como el Pb asociado a las fracciones intercambiable (F1) y carbonatos (F2) incrementaba significativamente a medida que aumentaba la dosis de EDTA. Por otro lado, la concentración del resto de fracciones sufría una disminución. Ellos sugirieron que el EDTA tenía la capacidad de redistribuir el Pb, solubilizado de las fracciones F3 y F4 hacia la F1 y la F2. No obstante, el efecto de la aplicación de EDTA sobre las distintas fracciones en las que se puede encontrar el Pb parece depender también de otras propiedades edáficas ya que, por ejemplo, Lei et al. (2008) encontraron en suelos de mina que las fracciones F2 a F5 disminuían con la adición de EDTA, aumentando solamente la F1.

En cuanto al pH, la presencia de 4 grupos carboxílicos en la molécula de EDTA es la razón por la que su disolución acuosa presenta un pH ácido (1, 5 y 10 mmol kg EDTA presentan un pH de 4,25, 4,35 y 4,46, respectivamente) por lo que no solo puede contribuir a la solubilización de Pb mediante la formación de quelatos, sino también por la liberación de Pb asociado a los carbonatos debido a la disolución de éstos. Este efecto secundario de la adición de EDTA ha sido sugerido en numerosas ocasiones (Glover, 1961; Bodine & Fernald, 1973; Frenier, 2001), y en nuestro caso es especialmente relevante, ya que la fracción del Pb asociada a los carbonatos es la más abundante, conteniendo una proporción de entre el 56 y el 61% del total antes del lavado. Naturalmente, el efecto de la disolución de EDTA en la solubilización de los carbonatos es limitado. En nuestro caso, usando la dosificación máxima de 10 mmol EDTA kg⁻¹, y

asumiendo que cada mol de EDTA puede transformar 4 moles de CaCO_3 a HCO_3^- , la disolución de los carbonatos podría llegar a afectar a un total de $4 \text{ g CaCO}_3 \text{ kg}^{-1}$, una cantidad muy por debajo de la cantidad total de carbonatos del suelo objeto de estudio (199 g kg^{-1}), pero que podría implicar la movilización de una notable cantidad de Pb asociado a estos carbonatos.

En una línea de trabajo parecida, un estudio realizado por Papassiopi et al. en 1999, en el que se comparó la eficacia de eliminación de Pb del suelo entre dos soluciones distintas de EDTA ($\text{Na}_2\text{-EDTA}$ y $\text{Na}_4\text{-EDTA}$), reveló que la mayor alcalinidad del $\text{Na}_4\text{-EDTA}$ disminuye la solubilización de Pb y por tanto la eliminación de Pb en comparación con la sal disódica.

La acidez inicial de las disoluciones de EDTA empleadas en este trabajo (4,25 a 4,46) no se ha encontrado en los lixiviados, cuyos valores de pH están en un rango de entre 7,39 (C1.0) y 7,58 (C1.5). Tampoco los valores de pH inicial del suelo, que estaban en un rango entre 7,5 (C1.0) y 7,8 (C1.5) han presentado, tras el lavado, una acidificación significativa, con valores finales entre 7,4 (C1.0) y 7,6 (C1.5). En nuestro caso, pues, los datos obtenidos evidencian que se ha producido una neutralización de la acidez incorporada mediante las disoluciones de EDTA, probablemente por la disolución parcial de parte de los carbonatos, lo que sin duda ha facilitado la extracción por lavado de una parte adicional del Pb, no por la formación de quelatos, sino por la propia disolución de los carbonatos.

5.3. La eficacia del tratamiento con EDTA en el lavado de Pb.

La concentración de Pb en los lixiviados, y en consecuencia la cantidad de Pb extraída del suelo que hemos conseguido con el lavado ha mostrado una correlación positiva con la dosis de EDTA añadida. Sin embargo, como se ha visto en la sección de resultados, el incremento de la dosis de EDTA no siempre produce un aumento proporcional en la extracción de Pb, la cual puede permanecer prácticamente invariable cuando se alcanza un cierto valor máximo, como ya ha sido reportado en otras ocasiones (Udovic & Lestan, 2007; Udovic & Lestan, 2010).

Este fenómeno se ha observado en el caso del nivel bajo de contaminación (C1, 1250 mg kg^{-1}) con la que se ha obtenido unos porcentajes de extracción de 2%, 52% y 65% (para 1, 5 y 10 mmol kg^{-1} de EDTA respectivamente, Tabla 13) si se calculan en base a la diferencia de concentraciones en el suelo antes y después del lavado, y del 19%, 76% y de 88% (para 1, 5 y 10 mmol kg^{-1} de EDTA respectivamente, Figura 17), cuando se calculan en base a las concentraciones de Pb en los lixiviados. Independientemente de la forma en la que se calcule la eficacia de la extracción, aspecto que se discute más adelante, se observa que el incremento de extracción de Pb entre la dosis de 1 y de 5

mmol kg⁻¹ es muy acusado, mientras que entre las dosis de 5 y 10 mmol kg⁻¹ se pierde la linealidad y la eficacia de la extracción, proporcionalmente, se reduce.

Por el contrario, en el caso del nivel de contaminación alto (C2, 2500 mg kg⁻¹) se ha observado que el aumento de la eficacia de eliminación de Pb en el lavado es lineal con la dosis de EDTA, tanto si ésta se calcula a partir del análisis de los lixiviados como a partir de la diferencia de concentraciones en el suelo antes y después del lavado. El distinto comportamiento de la eficacia del lavado en función de la dosis de EDTA para C1 y C2 tiene que ver, pues, con su distinta concentración total de Pb.

El EDTA es un quelante no-selectivo, ya que puede asociarse para formar complejos con un gran número de cationes presentes en el suelo como Ca²⁺, Mg²⁺, Fe²⁺ y Al³⁺ entre otros, lo que hace que exista una competencia entre el Pb²⁺ y estos cationes, para formar complejos con el EDTA (Tsang et al., 2007; Saifullah et al., 2009). Dada la co-extractabilidad de estos tipos de cationes en el suelo, es lógico pensar que una mayor concentración total de Pb facilitará la formación de una mayor proporción de complejos Pb-EDTA, lo que permite que en C2 la dosis de 10 mmol kg⁻¹ de EDTA sea proporcionalmente más eficaz que en C1.

El Ca²⁺ en particular, debido a su alta concentración en el suelo objeto de estudio y su solubilidad es uno de los iones que más fuertemente compiten con el Pb por la formación de quelatos con el EDTA a pH neutros (Nowack et al., 2006), lo que hace que en un suelo calcáreo la formación de complejos Ca-EDTA sea un factor a tener en cuenta. En el estudio de Papassiopi et al. (1999) se vio como el 90% del EDTA empleado para el lavado era consumido por el Ca²⁺ en los suelos calcáreos con un elevado contenido en CaCO₃. Por esta razón, antes de realizar este tipo de tratamientos es necesario conocer la cantidad de cationes en el suelo que pueden competir por el EDTA, así como las características del suelo (Manouchehri et al., 2006).

Confirmando lo apuntado más arriba, Manouchehri et al., en un estudio llevado a cabo en 2006, reportaron que la reducción de la efectividad del EDTA por la interferencia de otros cationes puede reducirse hasta en un 50% en suelos calcáreos. Los datos, en nuestro caso, también sugieren que se ha podido dar estos niveles de interferencia por cationes entre las dosis 5 y 10 mmol kg⁻¹ para el nivel bajo de contaminación (C1). Sin embargo, a niveles más altos de contaminación, los datos sugieren que este tipo de interferencias parecen ser menores.

La Tabla 15 muestra, para cada dosis de EDTA y nivel de contaminación, el cociente entre la cantidad extraída de Pb y la cantidad potencialmente extraíble si todo el EDTA hubiera formado quelatos solubles con el Pb exclusivamente. Como se puede observar, para el nivel de contaminación de 1250 mg Pb kg⁻¹ (C1), las dosis de 5 y 10 mmol kg⁻¹ de EDTA dan unos cocientes de entre un 40 y un 60%, mientras que éstos aumentan hasta un 70-80% para el nivel de contaminación de 2500 mg Pb kg⁻¹ (C2). Raramente se ha alcanzado un rendimiento de extracción del 100%, para lo que Saifullah et al., (2010) recomiendan un ratio molar EDTA:Pb de 10 o más.

Estos resultados sugieren que para concentraciones menores de Pb en el suelo la competencia ejercida por el calcio u otros metales extractables es proporcionalmente mayor que en niveles mayores de contaminación, donde la mayor abundancia de Pb mejora su rendimiento de extracción.

Tabla 15. Relación entre el Pb extraído del suelo, calculado a partir de la diferencia de concentraciones en el suelo, antes y después del lavado, y el Pb extraíble con cada dosis de EDTA.

Tratamiento	Ratio EDTA:Pb	Pb extraído/Pb extraíble
C1.1	0,17	0,12 ± 0,20
C1.5	0,83	0,60 ± 0,01
C1.10	1,66	0,40 ± 0,00
C2.1	0,08	1,49 ± 0,16
C2.5	0,41	0,81 ± 0,04
C2.10	0,83	0,70 ± 0,01

* C1 y C2 corresponden a las dosis de Pb de 1250 y 2500 mg kg⁻¹, respectivamente, y la numeración 1, 5 y 10 después del punto a la dosis de EDTA (mmol kg⁻¹).

Nuestros resultados han permitido calcular el rendimiento de extracción de Pb del suelo de dos formas distintas, a partir de la concentración de Pb en los lixiviados y a partir de la diferencia de concentraciones en el suelo, antes y después del lavado. Ello ha permitido constatar que existe una clara discrepancia entre los rendimientos de extracción de Pb calculados según los dos métodos (Figura 21), sobre todo visible en las dosis elevadas de EDTA. Es decir, mientras que los valores calculados para dosis bajas de EDTA presentan en general un alto grado de coincidencia, los valores estimados para dosis elevadas de EDTA son mucho mayores si se calculan a partir de las concentraciones de Pb en los lixiviados.

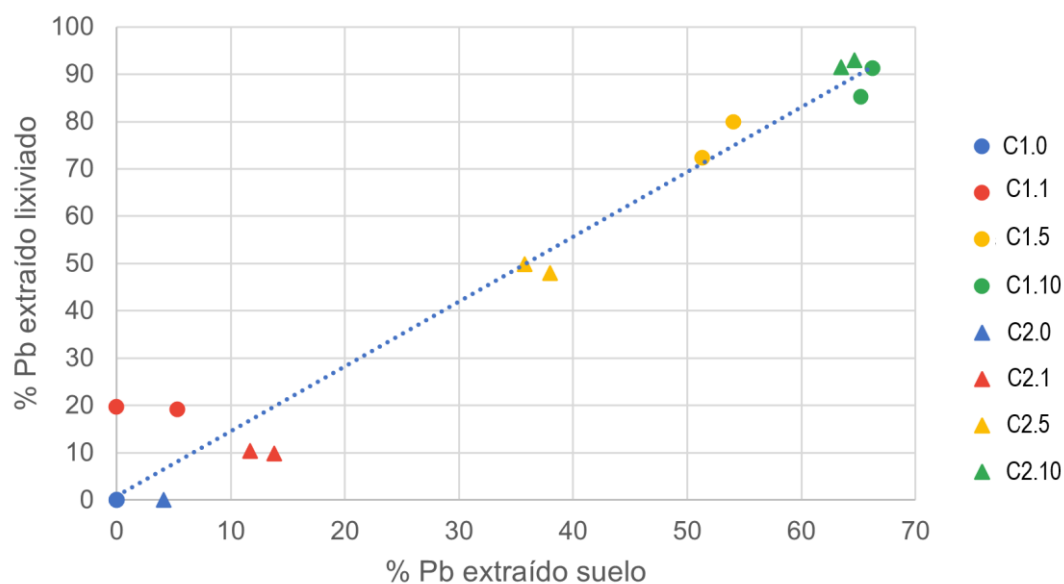


Figura 21. Comparación del porcentaje de Pb extraído del suelo calculado a partir de las concentraciones en los lixiviados y a partir de las diferencias de concentraciones en el suelo antes y después del lavado. La recta de regresión ($y = 0,91 + 1,37x$) presenta un valor R^2 de 0,96.

* C1 y C2 corresponden a las dosis de Pb de 1250 y 2500 mg kg⁻¹, respectivamente, y la numeración 0, 1, 5 y 10 a la dosis de EDTA (mmol kg⁻¹).

Los valores tan elevados de eliminación de Pb que nos muestra el análisis de los lixiviados sugieren que existe un error en la estimación con este método ya que, si tenemos en cuenta que la relación entre el Pb y el EDTA en la formación de quelatos es 1:1, la cantidad máxima de Pb que puede llegar a extraerse con la dosis alta de EDTA es de 2072 mg kg⁻¹, es decir, un 82,88% del Pb que tenemos en C2. A esta estimación habría que restarle, como ya se ha argumentado anteriormente, la fracción de EDTA que en lugar de formar complejos con el Pb lo hace con otros cationes como el Ca²⁺.

Löv et al. (2018; 2019) mostraron, en este sentido, que los ensayos de lavado en columnas de percolación tendían a sobreestimar la extracción de Pb debido a su movilización en forma particulada (0,45 – 8 µm) y coloidal (10 kDa – 0,45 µm). En nuestro caso, la migración de Pb asociado a partículas sólidas no resulta descartable, por la poca densidad del filtro de lana de vidrio depositado en la base de las columnas de percolación y menor tiempo de contacto, por lo que es muy posible que la estimación de la eficiencia de la extracción calculada a partir de los datos de los lixiviados sea una sobreestimación, por lo que parecen más fiables los datos de eficiencia de extracción calculados a partir de las concentraciones edáficas antes y después del lavado.

El notable aumento de la solubilidad del Pb con la adición de EDTA lo convierte en un potencial aliado para otro tipo de tratamientos de saneamiento de suelos, como la fitorremediación. Blaylock et al. en 1997 realizaron un estudio en el que compararon la extracción de Pb por la especie *Brassica juncea* sin la adición de EDTA y empleando distintas dosis del quelante (1, 5 y 10 mmol kg⁻¹). Los resultados demostraron que la solubilidad del Pb aumentaba a medida que se iba incrementando la dosis de EDTA y que esto incrementaba de forma considerable el Pb extraído por la planta, ya que mejora la traslocación de Pb desde las raíces a las partes aéreas, en comparación con la extracción sin la adición de quelante. Resultados similares han sido ampliamente reportados, por ejemplo, por Lim et al., (2004), Saifullah et al., (2009), Jelusic & Lestan (2014), Qiao et al., (2017), Labastida et al., (2021).

Para el caso de los suelos de Aragón, fundamentalmente calizos (Badía, 2021), ya se estableció en su día que las posibilidades de éxito de la fitoextracción eran escasas por la poca movilidad de los metales pesados en este tipo de suelos (Vaquero, 2019). Por ello, parece lógico que el uso de quelantes como el EDTA en este contexto sería una práctica muy recomendable para facilitar la solubilización de los metales, su absorción por parte de las raíces y su translocación hacia partes aéreas cosechables.

No obstante, en tratamientos de fitoextracción de Pb potenciados por el empleo de EDTA, se ha observado como niveles altos de Pb y EDTA libre generan problemas de desarrollo de las plantas (Saifullah et al., 2009), probablemente causados por la toxicidad derivada de una mayor concentración de metales solubles (Turgut et al., 2004).

Efectos negativos de los metales sobre la vegetación han sido ya descritos en trabajos previos realizados en el marco de nuestra línea de trabajo, en los que se ha observado una mortalidad total de *Brassica juncea* en suelos contaminados por Pb (1350 y 2700 mg kg⁻¹), Cu (1400 y 2800 mg kg⁻¹) y Ni (2000 y 4000 mg kg⁻¹) (Vaquero, 2019) o un desarrollo muy escaso de la misma especie en suelos contaminados también con Pb (2700 y 5400 mg kg⁻¹), Cu (2800 y 5600 mg kg⁻¹) y Ni (280 y 560 mg kg⁻¹) (Sarria, 2021), aún sin haber aportado EDTA a los suelos. Todo ello sugiere que los aportes de EDTA al suelo deben ser cuidadosamente dosificados, y probablemente solo cuando la fracción biodisponible es escasa. Para suelos fuertemente contaminados, aunque la fracción biodisponible es una fracción menor, ésta parece ser lo suficientemente rica en metales como para comprometer el desarrollo de la vegetación. Además, debe tenerse en cuenta que la mayor solubilidad de los elementos metálicos tras la adición del EDTA

puede implicar un mayor riesgo de contaminación de aguas subterráneas (Jalali & Khanlari, 2007; Saifullah et al., 2009).

La aplicación de EDTA en dosis más bajas y espaciadas en el tiempo en lugar de una única dosis puede ayudar a las plantas a desarrollar mecanismos de adaptación y soportar un mayor umbral de daño (Barocsi et al., 2003), además de ayudar a reducir el riesgo de lavado.

5.4. El suelo lavado.

El lavado del suelo con EDTA conlleva, como se ha demostrado en este trabajo, no solo una considerable disminución de la concentración total de Pb, sino también su redistribución dentro del suelo. Es decir, la acción del EDTA y el posterior lavado de los complejos organometálicos formados no afecta por igual a todas las fracciones de Pb consideradas en este trabajo, además de que puede haber migraciones del Pb de una fracción a otra, vía solubilización previa (Jalali & Khanlari, 2007).

Chen et al. (2015) encontraron que el Pb se elimina de las fracciones F1 a F4. Nuestros resultados son coincidentes con los suyos para las dosis de 5 y 10 mmol EDTA kg⁻¹, y además han permitido comprobar que las mayores eficiencias de extracción se producen, por este orden, en la fracción F1 (soluble e intercambiable), F2 (carbonatos), F3 (óxidos) y F4 (MO) (Tabla 14), independientemente del nivel de contaminación del suelo. En valor absoluto, sin embargo, la mayor cantidad de Pb extraída procede de las fracciones F2 y F3. Estos resultados son particularmente positivos desde el punto de vista del proceso de descontaminación del suelo, ya que las fracciones F2 y F3, en las que se han alcanzado porcentajes de eliminación del Pb muy elevados, son las fracciones en las que se encuentra más del 80% del Pb. Ello ha permitido que la concentración de Pb en las muestras tratadas con la dosis alta de EDTA haya pasado de 1277 a 438 mg Pb kg⁻¹ en el nivel de contaminación bajo (C1) y de 2251 a 809 mg Pb kg⁻¹ en el alto (C2).

La dosis baja de EDTA (1 mmol kg⁻¹), por el contrario, solamente ha permitido eliminar, además de una parte significativa del Pb intercambiable y soluble, una pequeña parte de la fracción F2, sin haber afectado a las otras fracciones, lo que sugiere que la dosificación del EDTA es un aspecto crítico en los tratamientos de descontaminación del suelo por lavado.

Conocer la forma en la que se distribuyen los metales en las fracciones del suelo es de vital importancia a la hora de evaluar las posibilidades de éxito en el tratamiento por lavado. En este sentido, los suelos en los que el Pb se encuentre fundamentalmente asociado a las fracciones F2 y F3 son los que presentan las mayores posibilidades de éxito en el tratamiento con EDTA, mientras que los suelos en los que el Pb se encuentre asociado fundamentalmente a la F4 o en la fracción mineral residual (F5) son los menos susceptibles de experimentar una mejora en este tipo de tratamiento.

Nuestros datos muestran que ha habido una redistribución del Pb hacia la fracción residual (F5), contrariamente a lo que habían reportado Zhang et al. (2010) y también Jalali & Khanlari (2007) que, en uno de sus ensayos, encontraron que el Pb asociado a la fracción residual había disminuido con el lavado. No es descartable que a causa de la velocidad del lavado no se haya eliminado por completo el Pb solubilizado y que éste, después del lavado, haya precipitado en la fracción F5. La redistribución del Pb hacia la fracción F5, teóricamente muy estable, abre una interesante línea de trabajo dedicada a conocer qué factores afectan a la insolubilización del Pb en esta fracción.

5.5. Valoración global del tratamiento.

Los resultados que se han obtenido en este trabajo sugieren que, en la dosis adecuada, el aporte de EDTA al suelo puede constituir un gran aliado en la eliminación de Pb del suelo por lavado. Entre las principales ventajas del uso del EDTA cabe citar:

1. El EDTA presenta una elevada eficiencia para solubilizar y, mediante el lavado, eliminar una gran cantidad el Pb del suelo. Además, en suelos calizos, en los que una fracción mayoritaria del Pb se encuentra asociado a los carbonatos, el EDTA ha mostrado una gran capacidad para solubilizar esta parte del Pb.
2. A las dosis en las que se ha ensayado, el EDTA parece no alterar significativamente el pH del suelo, por lo que los efectos directos sobre su actividad biológica deberían ser mínimos.
3. El bajo coste del quelante lo convierte en una buena opción coste/tratamiento frente a otros para el tratamiento de grandes cantidades de suelo. Por poner un ejemplo, para el tratamiento de 1 ha de suelo contaminado en un espesor de 0,4 m, con una proporción de elementos gruesos del 35% y una densidad aparente de 1300 kg m^{-3} , la cantidad necesaria de EDTA en una dosificación de 10 mmol kg^{-1} es de $11,36 \text{ Tm}$, que a un precio medio de 1710 € Tm^{-1} representa un coste

total de 19.426 €. De acuerdo con Hurtado (2010), el coste total del tratamiento de lavado *ex situ* con quelantes puede encontrarse en una horquilla de entre 45 y 100 € m⁻³, lo que en el ejemplo que nos ocupa, para un volumen de suelo de 4000 m³, representaría un coste de entre 180.000 y 400.000 €. Otros autores, como Honders et al., (2003), sitúan el coste total del tratamiento por lavado *ex situ* en una horquilla de entre 20 y 45 € Tm⁻¹, lo que, en nuestro caso, con un volumen de 4000 m³ (5.200 Tm) llevaría a un coste del tratamiento de entre 104.000 y 234.000 €, para lo que el coste del EDTA seguiría siendo una partida menor.

No obstante, la utilización del EDTA no es una práctica exenta de riesgos, entre los que podemos destacar:

1. Los procesos de envejecimiento por los que pasa el suelo una vez tratado con EDTA pueden afectar a la disponibilidad del Pb en el suelo, ya que se han documentado migraciones del Pb asociado a fracciones no-lábiles hacia formas más lábiles (Udovic & Lestan, 2008; Udovic & Lestan, 2010).
2. El EDTA presenta una baja biodegradabilidad (Kos, 2003; Shahid et al., 2014; Gluhar et al., 2020; Kaurin et al., 2020) por lo que, si no se manejan de forma correcta las dosis aplicadas, el EDTA que queda en el suelo es capaz de seguir solubilizando Pb y éste podría llegar a afectar a las aguas.
3. El empleo de grandes volúmenes de agua es un factor a tener en cuenta a la hora de valorar la viabilidad de tratar grandes cantidades de suelo. A pesar de que en nuestro estudio se han empleado 250 mL de agua para lavar 25 g de suelo, atendiendo a las pruebas de lavado (Figura 9) se ha comprobado que para el nivel más alto de contaminación y dosis de EDTA, sería suficiente 140 mL para extraer aproximadamente el 95% del Pb solubilizado. Además, cabe destacar la existencia de tecnología de circuitos cerrados, los cuales tratan el lixiviado producido y recirculan el agua de nuevo al proceso (Lestan et al., 2008).
4. Estudios de lavado del suelo con EDTA (Jesulic & Lestan, 2014; Udovic & Lestan, 2012) han mostrado que se produce una disminución de materia orgánica y del contenido de carbonatos del suelo. Nuestro estudio sugiere también que ha habido una disolución de parte de los carbonatos, en el proceso de neutralización de las disoluciones de EDTA. Si bien una descarbonatación

parcial puede tener consecuencias relativamente leves sobre las propiedades del suelo, la pérdida de materia orgánica puede tener efectos mucho más relevantes sobre las propiedades del suelo (Johnston et al., 2009; Murphy, 2015; Page et al., 2020), por lo que es un aspecto a controlar en este tipo de labores.

5. La adición de EDTA al suelo y el lavado posterior pueden provocar la solubilización y el lavado de otros nutrientes catiónicos (Borggaard, 1976; Sippola, 1994; Liu et al., 2022), lo que puede requerir prácticas posteriores de fertilización del suelo (Jelusic et al., 2014). En nuestro estudio la correlación positiva entre la CE y la dosis de EDTA aplicada (la CE aumenta de 0,15-0,57 dS m⁻¹ en C1 y 0,13-0,64 dS m⁻¹ en C2) sugiere que ha habido una pérdida de nutrientes.
6. Además, puede producirse una importante reducción de K⁺ intercambiable, causado por la sustitución de estos iones por iones de Na⁺ incorporados por la sal disódica del EDTA. En este sentido, Badía (2021) reporta en una recopilación de datos analíticos de suelos de Aragón contenidos promedio de K⁺ intercambiable de 0,71 cmol_c kg⁻¹, y la adición de la sal disódica del EDTA a una dosis de 10 mmol kg⁻¹ implica la incorporación de 2 cmol_c kg⁻¹ de Na⁺ que, aunque solo de manera parcial se adsorba en el complejo de intercambio catiónico, puede efectivamente limitar la absorción de K⁺ por parte de las plantas.

Aunque aparentemente se hayan encontrado más aspectos negativos que positivos, hay que tener en cuenta que los aspectos positivos muestran que el tipo de tratamiento es útil para la descontaminación del suelo, mientras que los aspectos negativos son cuestiones a tener en cuenta para ajustar la ejecución del tratamiento.

6. CONCLUSIONES

1. Las características del suelo objeto de estudio hacen que el Pb quede mayoritariamente insolubilizado, limitando su disponibilidad y movimiento por el perfil edáfico, por lo que, para ambos niveles de contaminación, el Pb asociado a la fracción considerada como más biodisponible (F1) es inferior al 4%.
2. El tiempo durante el que se ha sometido el suelo al proceso de maduración ha sido suficiente para conseguir una amplia redistribución del Pb a partir de la forma soluble en la que se ha incorporado al suelo.

3. En este suelo contaminado artificialmente, la mayoría del Pb queda asociado a los carbonatos (F2) en parte por la presencia de elevadas cantidades de CaCO_3 , y secundariamente a los óxidos de Fe y Mn. El orden de distribución del Pb por fracciones ha sido: $\text{F2} \gg \text{F3} > \text{F4} > \text{F5} \approx \text{F1}$
4. Se ha observado un incremento de la capacidad de la extracción del Pb con el aumento de la dosis de EDTA, consiguiendo unas eficiencias de extracción con la dosis más alta (10 mmol kg^{-1}) de aproximadamente el 65% para ambos niveles de contaminación. Sin embargo, se ha demostrado como eficiencias similares se podrían haber conseguido para el nivel bajo de contaminación con la dosis de 5 mmol kg^{-1} . El lavado con agua no ha extraído Pb en el nivel de contaminación bajo, y solamente un 4% en el nivel alto.
5. La fracción que en mayor medida de ha visto afectada es la intercambiable (F1), sin embargo, en términos de cantidad, la fracción de la que más Pb se ha conseguido extraer es la de carbonatos (F2)
6. Para los niveles de contaminación ensayados, la dosis baja de EDTA (1 mmol kg^{-1}) no produce un efecto significativo en la solubilización y extracción de Pb.
7. La solubilización del Pb se ha producido a través de dos mecanismos: (1) formación de complejos Pb-EDTA (2) liberación de Pb por la disolución parcial de los carbonatos.
8. A pesar de la clara eficacia del tratamiento, la no-selectividad del quelante puede reducir la eficacia de extracción del Pb a favor de otros cationes. Ello sugiere que, para el caso de niveles de contaminación elevados, se deberían emplear dosis más altas de EDTA.
9. Los resultados sugieren que el uso del EDTA en trabajos de descontaminación de suelos por lavado constituye una alternativa viable, si bien hay numerosos factores a tener en cuenta en el proceso, como las posibles pérdidas de MO y nutrientes y el riesgo de contaminación de aguas de drenaje en tratamientos *in situ*.
10. El claro aumento de la solubilidad del Pb usando EDTA lo convierte en un potencial aliado para tratamientos de fitoextracción, sobre todo a niveles de contaminación bajos que requieran de una dosis más baja de EDTA que no comprometan la viabilidad de las plantas.

7. REFERENCIAS

- Acosta, J. A., Jansen, B., Kalbitz, K., Faz, A., & Martínez-Martínez, S. (2011). Salinity increases mobility of heavy metals in soils. *Chemosphere*, 85(8), 1318-1324.
- Álvarez Calvo, M. (2019). *Tratamiento de suelos contaminados por metales mediante combinación de técnicas de fitorremediación con adición de biochar* (Doctoral dissertation, Industriales).
- Alloway, B.J. (1995) Heavy Metals in Soils. Blackie Academic and Professional, Chapman and Hall, London, 368 p
- B.O.A nº75, 2008. "ORDEN de 5 de mayo de 2008, del Departamento de Medio Ambiente, por la que se procede al establecimiento de los niveles genéricos de referencia para la protección de la salud humana de metales pesados y otros elementos traza en suelos de la Comunidad Autónoma de Aragón".
- B.O.E. nº 15, 2005. "Real Decreto 9/2005, de 14 de enero, por el que se establece la relación de actividades potencialmente contaminantes del suelo y los criterios y estándares para la declaración de suelos contaminados".
- B.O.E. nº 85, 2022. "Ley 7/2022, de 8 de abril, de residuos y suelos contaminados para una economía circular".
- Badía, D. 2021. iARASOL, programa interactivo para el estudio y clasificación de suelos de Aragón (<http://www.suelosdearagon.com/>)
- Bañuelos, G. S., & Ajwa, H. A. (1999). Trace elements in soils and plants: an overview. *Journal of Environmental Science & Health Part A*, 34(4), 951-974.
- Barocsi, A., Csintalan, Z., Kocsanyi, L., Dushenkov, S., Kuperberg, J. M., Kucharski, R., & Richter, P. I. (2003). Optimizing phytoremediation of heavy metal-contaminated soil by exploiting plants' stress adaptation. *International Journal of Phytoremediation*, 5(1), 13-23.
- Blaylock, M. J., Salt, D. E., Dushenkov, S., Zakharova, O., Gussman, C., Kapulnik, Y., ... & Raskin, I. (1997). Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. *Environmental Science & Technology*, 31(3), 860-865.
- Blum, W. E. (2005). Functions of soil for society and the environment. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 4(3), 75-79.
- Blum, W. E. (2008). Characterisation of soil degradation risk: an overview. *Threats to soil quality in Europe*, 23438, 5-10.
- Blum, W. E. (2020). Basic concepts: degradation, resilience, and rehabilitation. In *Methods for assessment of soil degradation* (pp. 1-16). CRC Press.
- Bodine Jr, M. W., & Fernalld, T. H. (1973). EDTA dissolution of gypsum, anhydrite, and Ca-Mg carbonates. *Journal of Sedimentary Research*, 43(4).
- Borggaard, O. K. (1976). The use of EDTA in soil analysis. *Acta Agriculturae Scandinavica*, 26(2), 144-150.

- Boudia, L., Rafatullah, M., Kerrouche, A., Qutob, M., Alosaimi, A. M., Alorfi, H. S., & Hussein, M. A. (2022). A review on cadmium and lead contamination: Sources, fate, mechanism, health effects and remediation methods. *Water*, 14(21), 3432.
- Comaschi, T., Meneghini, C., Businelli, D., Mobilio, S., & Businelli, M. (2011). XAS study of lead speciation in a central Italy calcareous soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 18(4), 669-676.
- Consejería de Medio ambiente de la Junta de Andalucía (director). (1999). Los criterios y estándares para declarar un suelo contaminado en Andalucía y la metodología y técnicas de toma de muestra y análisis para su investigación.
- Cooke, J. A., & Johnson, M. S. (2002). Ecological restoration of land with particular reference to the mining of metals and industrial minerals: A review of theory and practice. *Environmental Reviews*, 10(1), 41-71.
- Cortes Páez, L. E., Bravo Realpe, I. D. S., Martin Peinado, F. J., & Menjivar Flores, J. C. (2016). Extracción secuencial de metales pesados en dos suelos contaminados (Andisol y Vertisol) enmendados con ácidos húmicos. *Acta Agronómica*, 65(3), 232-238.
- Costa, J. G., Reigosa, M. J., Matías, J. M., & Covelo, E. F. (2017). Soil Cd, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn sorption and retention models using SVM: variable selection and competitive model. *Science of the total environment*, 593, 508-522.
- Czikkely, M., Neubauer, E., Fekete, I., Ymeri, P., & Fogarassy, C. (2018). Review of heavy metal adsorption processes by several organic matters from wastewaters. *Water*, 10(10), 1377.
- Chapman, H. D., y Pratt, P. F.: «Methods of Analysis for Soil Plants and Water», 233-234. University of California. División of Agricultural Sciences, 1961.
- Charlesworth, S., De Miguel, E., & Ordóñez, A. (2011). A review of the distribution of particulate trace elements in urban terrestrial environments and its application to considerations of risk. *Environmental geochemistry and health*, 33(2), 103-123.
- Chen, C., Chen, Y., Xie, T., Wang, M. K., & Wang, G. (2015). Removal, redistribution, and potential risks of soil Cd, Pb, and Zn after washing with various extractants. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(21), 16881-16888.
- Christian, G. D. (2010). *Química Analítica: Sexta Edición* (6.ª ed.). McGraw-Hill Interamericana de España S.L.
- Chuan, M. C., Shu, G. Y., & Liu, J. C. (1996). Solubility of heavy metals in a contaminated soil: effects of redox potential and pH. *Water, Air, and Soil Pollution*, 90(3), 543-556.
- Datko-Williams, L., Wilkie, A., & Richmond-Bryant, J. (2014). Analysis of US soil lead (Pb) studies from 1970 to 2012. *Science of the Total Environment*, 468, 854-863.
- Dermont, G., Bergeron, M., Mercier, G., & Richer-Lafleche, M. (2008). Soil washing for metal removal: a review of physical/chemical technologies and field applications. *Journal of hazardous materials*, 152(1), 1-31.
- Deng, Y. H. (2020). Chelating agent: The health protector of researchers in lead halide perovskite laboratory. ChemRxiv.

- Dhaliwal, S. S., Naresh, R. K., Mandal, A., Singh, R., & Dhaliwal, M. K. (2019). Dynamics and transformations of micronutrients in agricultural soils as influenced by organic matter build-up: A review. *Environmental and Sustainability Indicators*, 1, 100007.
- Diagboya, P. N., Olu-Owolabi, B. I., & Adebawale, K. O. (2015). Effects of time, soil organic matter, and iron oxides on the relative retention and redistribution of lead, cadmium, and copper on soils. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(13), 10331-10339.
- Du Laing, G., Rinklebe, J., Vandecasteele, B., Meers, E., & Tack, F. M. (2009). Trace metal behaviour in estuarine and riverine floodplain soils and sediments: a review. *Science of the total environment*, 407(13), 3972-3985.
- Durães, N., Novo, L. A., Candeias, C., & Da Silva, E. F. (2018). Distribution, transport and fate of pollutants. In *Soil pollution* (pp. 29-57). Academic Press.
- Elliott, H. A., & Brown, G. A. (1989). Comparative evaluation of NTA and EDTA for extractive decontamination of Pb-polluted soils. *Water, Air, and Soil Pollution*, 45(3), 361-369.
- Falahati, M. A., Hosseinpour, A., & Tabatabaei, S. H. (2013). Effect of salinity and sewage sludge on heavy metal availability and uptake by barley plant.
- Farrell, H. L., Léger, A., Breed, M. F., & Gornish, E. S. (2020). Restoration, soil organisms, and soil processes: emerging approaches. *Restoration Ecology*, 28, S307-S310.
- Ferreyroa, G. V., Montenegro, A. C., Tudino, M. B., Lavado, R. S., & Molina, F. V. (2014). Time evolution of Pb (II) speciation in Pampa soil fractions. *Chemical Speciation & Bioavailability*, 26(4), 210-218.
- Figuroa, A. A. B. (2014). Fitorremediación en la recuperación de suelos: una visión general. *RIAA*, 5(2), 245-258.
- Finžgar, N., & Leštan, D. (2007). Multi-step leaching of Pb and Zn contaminated soils with EDTA. *Chemosphere*, 66(5), 824-832.
- Finžgar, N., Tlustos, P., & Lestan, D. (2007). Relationship of soil properties to fractionation, bioavailability and mobility of lead and zinc in soil. *Plant soil and environment*, 53(5), 225.
- Frenier, W. W. (2001, February). Novel scale removers are developed for dissolving alkaline earth deposits. In *SPE International Symposium on Oilfield Chemistry*. OnePetro.
- Frentiu, T., Ponta, M., Levei, E., Gheorghiu, E., Kasler, I., & Cordos, E. (2008). Validation of the Tessier scheme for speciation of metals in soil using the Bland and Altman test. *Chemical Papers*, 62(1), 114-122.
- Gadepalle, V. P., Ouki, S. K., Herwijnen, R. V., & Hutchings, T. (2007). Immobilization of heavy metals in soil using natural and waste materials for vegetation establishment on contaminated sites. *Soil & Sediment Contamination*, 16(2), 233-251.
- Galán, E., & Romero, A. (2008). Contaminación de suelos por metales pesados. *Revista de la sociedad española de mineralogía*, 10, 48-60.

- Gall, J. E., Boyd, R. S., & Rajakaruna, N. (2015). Transfer of heavy metals through terrestrial food webs: a review. *Environmental monitoring and assessment*, 187(4), 1-21.
- Garrido, S. (1993). Interpretación de análisis de suelos. *Hoja Divulgativa Núm, 5. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de España*.
- Giller, K. E., Witter, E., & McGrath, S. P. (1998). Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: a review. *Soil biology and biochemistry*, 30(10-11), 1389-1414.
- Glover, E. D. (1961). Method of solution of calcareous materials using the complexing agent, EDTA. *Journal of Sedimentary Research*, 31(4), 622-626.
- Gluhar, S., Kaurin, A., & Lestan, D. (2020). Soil washing with biodegradable chelating agents and EDTA: technological feasibility, remediation efficiency and environmental sustainability. *Chemosphere*, 257, 127226.
- González-Mille, D. J., Espinosa-Reyes, G., del Carmen Cuevas-Díaz, M., Martínez-Toledo, Á., Carrizalez-Yáñez, L., García-Areola, M. E., & Ilizaliturri-Hernández, C. A. (2019). Evaluation of the biological activity of soil in a gradient concentration of Arsenic and Lead in Villa de la Paz, San Luis Potosí, Mexico. *Soil Contamination and Alternatives for Sustainable Development*, 35-55.
- Gustafsson, J. P., Tiberg, C., Edkymish, A., & Kleja, D. B. (2011). Modelling lead (II) sorption to ferrihydrite and soil organic matter. *Environmental Chemistry*, 8(5), 485-492.
- Honders, A., Maas, T., & Gadella, J. M. (2003, June). Ex-situ treatment of contaminated soil—The Dutch experience. In *5th Int. Conf. Environ. Tech. Implic. Constr. With Altern. Mater. San Sebastián, Spain* (p. 19).
- Hooda, P. S., & Alloway, B. J. (1998). Cadmium and lead sorption behaviour of selected English and Indian soils. *Geoderma*, 84(1-3), 121-134.
- Hu, P., Yang, B., Dong, C., Chen, L., Cao, X., Zhao, J., ... & Christie, P. (2014). Assessment of EDTA heap leaching of an agricultural soil highly contaminated with heavy metals. *Chemosphere*, 117, 532-537.
- Huamain, C., Chunrong, Z., Cong, T. U., & Yongguan, Z. (1999). Heavy metal pollution in soils in China: status and countermeasures. *Ambio*, 130-134.
- Hurtado, S. (2010). Diseño básico de una planta de desorción térmica para el tratamiento de suelos contaminados. Proyecto Fin de Carrera. Escuela Superior de Ingenieros de Sevilla, Departamento de Ingeniería Química y Ambiental.
- Jaiswal, A., Verma, A., & Jaiswal, P. (2018). Detrimental effects of heavy metals in soil, plants, and aquatic ecosystems and in humans. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 37(3).
- Jalali, M., & Khanlari, Z. V. (2007). Redistribution of fractions of zinc, cadmium, nickel, copper, and lead in contaminated calcareous soils treated with EDTA. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 53(4), 519-532.

- Jelusic, M., & Lestan, D. (2014). Effect of EDTA washing of metal polluted garden soils. Part I: Toxicity hazards and impact on soil properties. *Science of the Total Environment*, 475, 132-141.
- Jelusic, M., Vodnik, D., & Lestan, D. (2014). Revitalization of EDTA-remediated soil by fertilization and soil amendments. *Ecological engineering*, 73, 429-438.
- Jiménez Jiménez, R. (2017). *Introducción a la contaminación de suelos*. Mundi-Prensa Libros.
- Johnston, A. E., Poulton, P. R., & Coleman, K. (2009). Soil organic matter: its importance in sustainable agriculture and carbon dioxide fluxes. *Advances in agronomy*, 101, 1-57.
- Julián, P. L., & Collado, J. M. (2002). Extracciones químicas secuenciales de metales pesados. Aplicación en Ciencias Geológicas. *Estudios geológicos*, 58(5-6), 133-144.
- Kabata-Pendias, A. (1995). Agricultural problems related to excessive trace metal contents of soils. In *Heavy metals* (pp. 3-18). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Kaurin, A., Gluhar, S., Tilikj, N., & Lestan, D. (2020). Soil washing with biodegradable chelating agents and EDTA: Effect on soil properties and plant growth. *Chemosphere*, 260, 127673.
- Kayhanian, M. (2012). Trend and concentrations of legacy lead (Pb) in highway runoff. *Environmental Pollution*, 160, 169-177.
- Khanlari, Z. V., & Jalali, M. (2008). Concentrations and chemical speciation of five heavy metals (Zn, Cd, Ni, Cu, and Pb) in selected agricultural calcareous soils of Hamadan Province, western Iran. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 54(1), 19-32.
- Khodaverdiloo, H., & Hamzenejad Taghlidabad, R. (2014). Phytoavailability and potential transfer of Pb from a salt-affected soil to *Atriplex verucifera*, *Salicornia europaea* and *Chenopodium album*. *Chemistry and Ecology*, 30(3), 216-226.
- Kos, B. (2003). Influence of a biodegradable ([S, S]-EDDS) and nondegradable (EDTA) chelate and hydrogel modified soil water sorption capacity on Pb phytoextraction and leaching. *Plant and Soil*, 253(2), 403-411.
- Kos, B., & Leštan, D. (2003). Induced phytoextraction/soil washing of lead using biodegradable chelate and permeable barriers. *Environmental Science & Technology*, 37(3), 624-629.
- Labastida, I., Mercado, L. A., Rojas, S., Barrera, B., Beltrán, M., Armienta, M. A., Lara, R. H., & Luna, R. M. (2021). Remediation by means of EDTA of an agricultural calcareous soil polluted with Pb. *Environmental Geochemistry and Health*, 43(6), 2231–2242.
- Lal, R. (2015). Restoring soil quality to mitigate soil degradation. *Sustainability*, 7(5), 5875-5895.
- Lal, R., Hall, G. F., & Miller, F. P. (1989). Soil degradation: I. Basic processes. *Land Degradation & Development*, 1(1), 51-69.
- Larios, B. M. (2014). Niveles de Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb Y Zn en los suelos de ribera de la cuenca del rio Turia.
- Lee, S. Z., Chang, L., Yang, H. H., Chen, C. M., & Liu, M. C. (1998). Adsorption characteristics of lead onto soils. *Journal of Hazardous Materials*, 63(1), 37-49.

- Lei, M., Liao, B. H., Zeng, Q. R., Qin, P. F., & Khan, S. (2008). Fraction distributions of lead, cadmium, copper, and zinc in metal-contaminated soil before and after extraction with disodium ethylenediaminetetraacetic acid. *Communications in soil science and plant analysis*, 39(13-14), 1963-1978.
- Leštan, D., Luo, C. L., & Li, X. D. (2008). The use of chelating agents in the remediation of metal-contaminated soils: a review. *Environmental pollution*, 153(1), 3-13.
- Li, C., Zhou, K., Qin, W., Tian, C., Qi, M., Yan, X., & Han, W. (2019). A review on heavy metals contamination in soil: effects, sources, and remediation techniques. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 28(4), 380-394.
- Lim, J.-M., Salido, A. L., & Butcher, D. J. (2004). Phytoremediation of lead using Indian mustard (*Brassica juncea*) with EDTA and electrodisks. *Microchemical Journal*, 76(1–2), 3–9.
- Li-qun, W. A. N. G., Lei, L. U. O., Yi-bing, M. A., Dong-pu, W. E. I., & Luo, H. U. A. (2009). In situ immobilization remediation of heavy metals-contaminated soils: A review. *Yingyong Shengtai Xuebao*, 20(5).
- Liu, J., Zhao, L., Liu, Q., Li, J., Qiao, Z., Sun, P., & Yang, Y. (2022). A critical review on soil washing during soil remediation for heavy metals and organic pollutants. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 19(1), 601-624.
- López-Martínez, J.S. (2016). Evaluación económica de los aditivos de enjuague mediante la determinación de plomo y cadmio en el proceso de lavado de botellas de vidrio retornables en la ELM S.A. (Trabajo de Graduación). Universidad de San Carlos de Guatemala
- Löv, Å., Cornelis, G., Larsbo, M., Persson, I., Sjöstedt, C., Gustafsson, J. P., Boye, K., & Kleja, D. B. (2018). Particle- and colloid-facilitated Pb transport in four historically contaminated soils - Speciation and effect of irrigation intensity. *Applied Geochemistry*, 96, 327–338.
- Löv, Å., Larsbo, M., Sjöstedt, C., Cornelis, G., Gustafsson, J. P., & Kleja, D. B. (2019). Evaluating the ability of standardised leaching tests to predict metal(loid) leaching from intact soil columns using size-based elemental fractionation. *Chemosphere*, 222, 453–460.
- Manouchehri, N., Besancon, S., & Bermond, A. (2006). Major and trace metal extraction from soil by EDTA: Equilibrium and kinetic studies. *Analytica Chimica Acta*, 559(1), 105-112.
- Manousaki, E., & Kalogerakis, N. (2009). Phytoextraction of Pb and Cd by the Mediterranean saltbush (*Atriplex halimus* L.): metal uptake in relation to salinity. *Environmental Science and Pollution Research*, 16(7), 844-854.
- Martinez-Villegas, N., Flores-Vélez, L. M., & Dominguez, O. (2004). Sorption of lead in soil as a function of pH: a study case in México. *Chemosphere*, 57(10), 1537-1542.
- Meers, E., Qadir, M., De Caritat, P., Tack, F. M. G., Du Laing, G., & Zia, M. H. (2009). EDTA-assisted Pb phytoextraction. *Chemosphere*, 74(10), 1279-1291.
- Mielke, H. W., Laidlaw, M. A., & Gonzales, C. (2010). Lead (Pb) legacy from vehicle traffic in eight California urbanized areas: continuing influence of lead dust on children's health. *Science of the total environment*, 408(19), 3965-3975.

Moreno Fernández, M. (2018). La contaminación del suelo por plomo y sus consecuencias sobre la salud humana.

Mulligan, C. N., Yong, R. N., & Gibbs, B. F. (2001). Remediation technologies for metal-contaminated soils and groundwater: an evaluation. *Engineering geology*, 60(1-4), 193-207.

Muñoz-Rojas, M. (2018). Soil quality indicators: critical tools in ecosystem restoration. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 5, 47-52.

Murphy, B. W. (2015). Impact of soil organic matter on soil properties—a review with emphasis on Australian soils. *Soil Research*, 53(6), 605-635.

Nascimento, C. W. A. D. (2006). Organic acids effects on desorption of heavy metals from a contaminated soil. *Scientia Agricola*, 63, 276-280.

Navas, A., & Machín, J. (2002). Spatial distribution of heavy metals and arsenic in soils of Aragon (northeast Spain): controlling factors and environmental implications. *Applied geochemistry*, 17(8), 961-973.

Nowack, B., Schulin, R., & Robinson, B. H. (2006). Critical assessment of chelant-enhanced metal phytoextraction. *Environmental Science & Technology*, 40(17), 5225-5232.

Oldeman, L. R. (1992). Global extent of soil degradation. In *Bi-Annual Report 1991-1992/ISRIC* (pp. 19-36). ISRIC.

Oviedo, C., & Rodríguez, J. (2003). EDTA: the chelating agent under environmental scrutiny. *Química Nova*, 26, 901-905.

Page, K. L., Dang, Y. P., & Dalal, R. C. (2020). The ability of conservation agriculture to conserve soil organic carbon and the subsequent impact on soil physical, chemical, and biological properties and yield. *Frontiers in sustainable food systems*, 4, 31.

Pansu M., Gautheyrou, J. (2006). Handbook of Soil Analysis. Mineralogical, Organic and Inorganic Methods. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.

Papassiopi, N., Tambouris, S., & Kontopoulos, A. (1999). Removal of heavy metals from calcareous contaminated soils by EDTA leaching. *Water, Air, and Soil Pollution*, 109(1), 1-15.

Parfitt, R. L., Giltrap, D. J., & Whitton, J. S. (1995). Contribution of organic matter and clay minerals to the cation exchange capacity of soils. *Communications in soil science and plant analysis*, 26(9-10), 1343-1355.

Peters, R. W. (1999). Chelant extraction of heavy metals from contaminated soils. *Journal of Hazardous materials*, 66(1-2), 151-210.

Pincus, L. N., Ryan, P. C., Huertas, F. J., & Alvarado, G. E. (2017). The influence of soil age and regional climate on clay mineralogy and cation exchange capacity of moist tropical soils: A case study from Late Quaternary chronosequences in Costa Rica. *Geoderma*, 308, 130-148.

Ponizovskii, A. A., & Mironenko, E. V. (2001). Mechanisms of lead (II) sorption in soils. *EURASIAN SOIL SCIENCE C/C OF POCHVOVEDENIE*, 34(4), 371-381.

Porta, J., López-Acevedo, M., Rodríguez, R. (1986). Técnicas y experimentos en edafología. Col·legi Oficial d'Enginyers Agrònoms de Catalunya. Barcelona.

- Qiao, J., Sun, H., Luo, X., Zhang, W., Mathews, S., & Yin, X. (2017). EDTA-assisted leaching of Pb and Cd from contaminated soil. *Chemosphere*, 167, 422–428.
- Rábago Juan-Aracil, I. (2010). Capacidad de amortiguación de la contaminación por plomo y por cadmio en suelos de la comunidad de Madrid.
- Rauret, G. (1998). Extraction procedures for the determination of heavy metals in contaminated soil and sediment. *Talanta*, 46(3), 449-455.
- Saifullah, Meers, E., Qadir, M., de Caritat, P., Tack, F. M. G., du Laing, G., & Zia, M. H. (2009). EDTA-assisted Pb phytoextraction. *Chemosphere*, 74(10), 1279–1291.
- Saifullah, Zia, M. H., Meers, E., Ghafoor, A., Murtaza, G., Sabir, M., Zia-ur-Rehman, M., & Tack, F. M. G. (2010). Chemically enhanced phytoextraction of Pb by wheat in texturally different soils. *Chemosphere*, 79(6), 652-658.
- Sarría, I. (2021). Evaluación de la utilidad de la mostaza de la India (*Brassica juncea*) para la descontaminación de un suelo calizo contaminado por plomo, níquel y cobre. (Trabajo de Fin de Grado). Universidad de Zaragoza.
- Senesil, G. S., Baldassarre, G., Senesi, N., & Radina, B. (1999). Trace element inputs into soils by anthropogenic activities and implications for human health. *Chemosphere*, 39(2), 343-377.
- Sethy, S. K., & Ghosh, S. (2013). Effect of heavy metals on germination of seeds. *Journal of natural science, biology, and medicine*, 4(2), 272.
- Shahid, M., Austruy, A., Echevarria, G., Arshad, M., Sanaullah, M., Aslam, M., ... & Dumat, C. (2014). EDTA-enhanced phytoremediation of heavy metals: a review. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 23(4), 389-416.
- Sipos, P., Németh, T., Mohai, I., & Dódon, I. (2005). Effect of soil composition on adsorption of lead as reflected by a study on a natural forest soil profile. *Geoderma*, 124(3-4), 363-374.
- Sippola, J. (1994). Acid ammonium acetate-EDTA universal extractant in soil testing and environmental monitoring. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 25(9-10), 1755-1761.
- Smejkalova, M., Mikanova, O., & Boruvka, L. J. P. S. (2003). Effects of heavy metal concentrations on biological activity of soil micro-organisms. *Plant Soil and Environment*, 49(7), 321-326.
- Soil contamination widespread in Europe. (2020). European Environment Agency. <https://www.eea.europa.eu/highlights/soil-contamination-widespread-in-europe>
- Soil Science Division Staff. 2017. Soil survey manual. C. Ditzler, K. Scheffe, and H.C. Monger (eds.). USDA Handbook 18. Government Printing Office, Washington, D.C.
- Tessier, A., Campbell, P. G. C., & Bisson, M. (1979). Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Analytical Chemistry*, 51(7), 844–851.
- Tsang, D. C., Zhang, W., & Lo, I. M. (2007). Copper extraction effectiveness and soil dissolution issues of EDTA-flushing of artificially contaminated soils. *Chemosphere*, 68(2), 234-243.

Turan, M., & Esringu, A. (2007). Phytoremediation based on canola (*Brassica napus* L.) and Indian mustard (*Brassica juncea* L.) planted on spiked soil by aliquot amount of Cd, Cu, Pb, and Zn. *Plant Soil and Environment*, 53(1), 7.

Turgut, C., Katie Pepe, M., & Cutright, T. J. (2004). The effect of EDTA and citric acid on phytoremediation of Cd, Cr, and Ni from soil using *Helianthus annuus*. *Environmental Pollution*, 131(1), 147–154.

Udovic, M., & Lestan, D. (2009). Pb, Zn and Cd mobility, availability and fractionation in aged soil remediated by EDTA leaching. *Chemosphere*, 74(10), 1367-1373.

Udovic, M., & Lestan, D. (2010). Redistribution of residual Pb, Zn, and Cd in soil remediated with EDTA leaching and exposed to earthworms (*Eisenia fetida*). *Environmental technology*, 31(6), 655-669.

Udovic, M., & Lestan, D. (2012). EDTA and HCl leaching of calcareous and acidic soils polluted with potentially toxic metals: remediation efficiency and soil impact. *Chemosphere*, 88(6), 718-724.

Usman, A., Kuzyakov, Y., & Stahr, K. (2005). Effect of clay minerals on immobilization of heavy metals and microbial activity in a sewage sludge-contaminated soil (8 pp). *Journal of soils and sediments*, 5(4), 245-252.

Vaquero, A. (2019). Estudio de las posibilidades de utilización de *Brassica juncea* para la fitorremediación de suelos contaminados por metales pesados en Aragón. (Trabajo de Fin de Grado). Universidad de Zaragoza.

Wade, A. M., Richter, D. D., Craft, C. B., Bao, N. Y., Heine, P. R., Osteen, M. C., & Tan, K. G. (2021). Urban-soil pedogenesis drives contrasting legacies of lead from paint and gasoline in city soil. *Environmental Science & Technology*, 55(12), 7981-7989.

Warfvinge, P., & Sverdrup, H. (1992). Calculating critical loads of acid deposition with PROFILE—a steady-state soil chemistry model. *Water, Air, and Soil Pollution*, 63(1), 119-143.

Weil, R.R., Brady, N.C. (2017). The Nature and properties of soils. Fifteenth edition. Global edition. Pearson. Harlow, England.

WRB, World Reference Base for Soil Resources. IUSS Working Group WRB. 2022. World Reference Base for Soil Resources. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. 4th edition. International Union of Soil Sciences (IUSS), Vienna, Austria.

Yang, Z., Zhang, S., Liao, Y., Li, Q., Wu, B., & Wu, R. (2012). Remediation of heavy metal contamination in calcareous soil by washing with reagents: A column washing. *Procedia Environmental Sciences*, 16, 778-785.

Yao, Z., Li, J., Xie, H., & Yu, C. (2012). Review on remediation technologies of soil contaminated by heavy metals. *Procedia Environmental Sciences*, 16, 722-729.

Zhang, W., Huang, H., Tan, F., Wang, H., & Qiu, R. (2010). Influence of EDTA washing on the species and mobility of heavy metals residual in soils. *Journal of hazardous materials*, 173(1-3), 369-376.

Zhao, S., Shen, Z., & Duo, L. (2015). Heavy metal uptake and leaching from polluted soil using permeable barrier in DTPA-assisted phytoextraction. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(7), 5263-5270.