



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA INORGANICA Y ANALITICA
LABORATORIO DE QUIMICA AMBIENTAL

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE QUÍMICO

“Biodisponibilidad de metales traza en suelos tratados con distintas dosis de biosólidos, usando plantas de Ballica como bioindicador.”

Evelyn Paola Contreras Illanes

DIRECTORES DE TESIS:

Ines Ahumada T
Loreto Ascar E.

PROFESOR PATROCINANTE:

Ines Ahumada T

Santiago – Chile
2009

“Con Amor todo se puede lograr, pues es fuente de vida, pionero de tus ideales y base de todo sacrificio.”

*Dedicado a
todos mis seres tan queridos,
en es especial a Nicolás y
a mi hijito amado Agustín.*

Agradecimientos

A mis padres Jaime y Mary que los amo, agradezco porque me aman incondicionalmente, por el esfuerzo y apoyo no sólo en mi carrera sino también en mis decisiones. A Carem y Jaime que los adoro, y a ti mi querida abuelita Olga.

Mi familia es un festín de cariños por eso les agradezco a mis dos grandes amores Nicolás y mi hijo Agustín por hacerme realmente feliz.

A lo largo de toda esta gran aventura del saber quisiera agradecer a todos los profesores que se han esforzado por educar en esta gran universidad como es la prestigiosa U. de Chile y de manera especial premiar a mis directoras Inés Ahumada y Loreto Ascar por su solidez, conocimiento y dedicación en esta labor, por acogerme amigablemente y depositar confianza en mi. A mis queridos maestros y amigos que jamás olvidaré por su sabiduría Fernando Castañeda, Isabel Fuentes, Fernando Valenzuela y Germán Günter, que además fueron un gran pilar para mi y mis amigos.

A mis grandes amigos y compañeros de carrera que adoro Claudia toro, Fabián Vargas, Juan Canales, Eduardo Berrios, Margorie Cepeda, Iván Salinas, Paulina Griño, Victor Hugo Cisternas, Andrea Venegas, Alejandro Herrera, Esteban Geldres, Masiel Cerón, Makarena Ávila, Oscar Sepúlveda y Mario Vera junto a Jenny Morales con su hijito Vicente, que los quiero, entre otros buenos compañeros de Facultad Lory L, Siria M, Carolina O, Javier M, Mirén L y muchos más con quienes he pasado muy buenos y difíciles momentos. También de forma especial a mis amigos de toda la vida, a todos gracias por sus palabras cuando las necesité.

A mis super amigos de Laboratorio: Adolfo M, Ady G, Carlos C, Carlos E, Catalina P, Claudio L, Jorge R, Prof. Pablo Richter, Carla T, Mario R, Pamela C y Cristina P quienes me han apoyado en todo momento, y con quienes he compartido y reafirmado conocimientos.

Gracias.

ÍNDICE

1.- INTRODUCCIÓN.....	1
2.- OBJETIVOS	6
2.1- Objetivos Generales	6
2.2- Objetivos Específicos	6
3.- MATERIALES Y MÉTODOS	7
3.1- Descripción de las muestras	7
3.2- Caracterización general de los suelos y biosólido.....	9
3.3.- Determinación de Cu, Zn, Ni, Pb y Cr en muestras de suelos, biosólido y mezclas de suelo-biosólido.....	11
3.4.- Determinación del contenido total de metales en las plantas de Ballica.....	12
4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	13
4.1 - Caracterización de los suelos y biosólido.....	13
4.2.- Contenido total de metales en las muestras.	14
• Contenido total de metales en el biosólido.....	14
• Contenido total de metales en los suelos CHD y LIN.	15
4.3.- Fraccionamiento químico de los metales, en muestras de biosólido y suelos tratados con biosólido en dosis 0, 15, 30, 45 y 60 Mg ha ⁻¹	18
4.3.1.- Biosólido	18
4.3.2.- Distribución de metales en suelos tratados con biosólido en	19
dosis 0,15, 30, 45 y 60 Mg ha ⁻¹	19
4.4.- Contenidos totales de Cu, Pb, Cr, Ni, Zn en plantas de Ballica cultivadas en los suelos CHD y LIN tratados con biosólidos a distintas dosis.....	31
4.5.- Relación entre las distintas fracciones de metal en los suelos y su contenido en las plantas de Ballica.....	33
5.- CONCLUSIONES.....	36
6.- BIBLIOGRAFÍA.....	37
7.- ANEXOS.....	41

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Concentraciones máximas permisibles de metales en biosólidos para la aplicación en suelos agrícolas o forestales, y en suelos degradados.....	2
Tabla 2: Contenidos máximos de metales pesados y metaloides en suelos agrícolas, antes de una aplicación benéfica de biosólidos (INN 2007).....	3
Tabla 3.- Descripción de los suelos seleccionados.....	7
Tabla 4.- Etapas del Fraccionamiento Químico, BCR.....	12
Tabla 5.- Características generales de suelos y biosólidos.....	13
Tabla 6.- Comparación de los contenidos totales de BET2008 con la norma chilena.....	14
Tabla 7.- Contenido total de Cu, Pb, Cr, Ni y Zn en mezclas de suelo-biosólido, a 0,15, 30, 45 y 60 Mg/ha.....	16
Tabla 8.- Fraccionamiento de Cu en los suelos CHD y LIN, incluyendo el análisis multifactorial que evaluó los efectos: dosis de biosólidos y tiempo de incubación.....	22
Tabla 9.- Fraccionamiento de Ni, en los suelos CHD y LIN tratados con biosólido. Análisis multifactorial que considera los efectos: dosis de biosólidos y tiempo de incubación.....	28
Tabla 10.- Fraccionamiento de Zn, en los suelos CHD y LIN tratados con biosólido. Análisis multifactorial que considera los efectos: dosis de biosólidos y tiempo de incubación.....	30
Tabla 11.- Ecuación de regresión múltiple entre las distintas fracciones de los metales en los suelos tratados con diferentes dosis de biosólido y el contenido metales en plantas de ballica cultivadas en estos suelos.....	35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Contenido total de Cu, Pb, Cr, Ni, y Zn en el biosólido ET-2008.....	14
Figura 2: Contenido total de Cu, Pb, Cr, Ni y Zn en los suelos CHD y LIN.....	15
Figura 3.- Contenido total de Cu, Pb, Cr, Ni y Zn en suelos CHD y LIN tratados con biosólido en distintas dosis (0, 15, 30, 45 y 60 Mg ha ⁻¹).	17
Figura 4.- Distribución de las formas químicas de Cu, Cr, Pb, Ni y Zn en el biosólido.	19
Figura 5.- Distribución de las formas químicas de Cu en los suelos CHD y LIN tratados con 0, 15, 30, 45 y 60 Mg ha ⁻¹ de biosólido.....	21
Figura 6.- Distribución de las formas químicas de Pb en los suelos CHD y LIN tratados con 0, 15, 30, 45 y 60 Mg ha ⁻¹ de biosólido.....	24
Figura 7.- Distribución de las formas químicas de Cr en los suelos CHD y LIN tratados con 0, 15, 30, 45 y 60 Mg ha ⁻¹ de biosólido.....	25
Figura 8.- Distribución de las formas químicas de Ni en los suelos CHD y LIN tratados con 0, 15, 30, 45 y 60 Mg ha ⁻¹ de biosólido.....	27
Figura 9.- Distribución de las formas químicas de Zn en los suelos CHD y LIN tratados con 0, 15, 30, 45 y 60 Mg ha ⁻¹ de biosólido.....	29
Figura 10.- Contenido total de Cu, Zn, Ni, Pb y Cr en las plantas de Ballica para LIN y CHD, tratados con biosólidos de 0, 15, 30, 45 y 60 Mg/ha.....	

RESUMEN

La aplicación de biosólidos, ha sido utilizada como una alternativa de bajo costo para la recuperación de los suelos agrícolas degradados, por su importante contenido de macro y micronutrientes y de materia orgánica. Por otra parte, la aplicación de biosólidos en suelos agrícolas, aparece como una de las opciones más factibles para solucionar el problema de disposición de estos residuos en monorrellenos, cuyas capacidades y vida útil estarían limitadas en el tiempo. Sin embargo, su aplicación en suelos puede generar un real problema ambiental y sanitario ya que estos residuos pueden aportar patógenos y compuestos tóxicos de naturaleza orgánica e inorgánica. Respecto de estos últimos, hay que destacar a los metales pesados, ya que pueden acumularse en este medio, o bien, dependiendo de su asociación química con los distintos componentes del suelo, pueden ser lixiviados hacia el nivel freático y/o asimilados por las plantas y ser transportados a través de su consumo tanto a animales como a humanos. Por tanto es necesario conocer el efecto de la incorporación de estos residuos a suelos agrícolas, respecto de la movilidad y disponibilidad de metales traza como Cr, Cu, Ni, Pb y Zn.

En este estudio se evaluó la aplicación de un biosólido en distintas dosis (0, 15, 30, 45 y 60 Mg ha⁻¹) en cuanto a la distribución de metales traza como Cu, Cr, Ni, Pb y Zn en dos series de suelos, Linderos (LIN) y Chada (CHD), ubicadas al sur de la ciudad de Santiago, correspondientes al orden Inceptisol y Mollisol respectivamente. Se utilizó la metodología estandarizada de extracción secuencial BCR para obtener las distintas asociaciones químicas o fracciones de los metales trazas. Con el fin de determinar el efecto de la degradación de la materia orgánica en la distribución de los metales en estudio, las muestras de suelos y mezclas suelos-biosólidos fueron incubadas por sesenta días y para determinar la fracción biodisponible de los metales, en distintas muestras se realizó un cultivo de Ballica (*Lolium Perenne*), lo que fue relacionado con el fraccionamiento químico de los metales.

Los resultados mostraron que en el biosólido, el orden en el contenido total de los metales fue: Zn > Cu > Cr > Ni > Pb. A excepción de Ni dichas concentraciones se encontraron sobre las concentraciones máximas permitidas por la norma chilena, para su aplicación a suelos agrícolas. Respecto del contenido total en los suelos, ambos presentaron un contenido similar de Cr, pero CHD mostró mayor concentración de Zn que LIN, en cambio este último presentó mayor concentración de Cu, Pb y Ni. En general en el biosólido, los metales están predominantemente asociados a óxidos o a la materia orgánica, sin embargo se debe destacar que una parte importante de Zn se encontró en la forma más lábil.

Se evaluaron estadísticamente a través de un análisis multifactorial, los efectos de la dosis de biosólido y el proceso de incubación respecto de la variación de la distribución de los metales estudiados, encontrándose que la dosis de biosólido influyó más que el proceso de incubación y las diferencias encontradas sólo fueron significativas para Cu, Ni y Zn.

Respecto de la determinación de la fracción biodisponible de los metales, se encontró que ésta fue mayor para Cu y Zn. La biodisponibilidad de éstos dependió del suelo ya que se encontraron concentraciones mayores de estos metales en las plantas de Ballica cultivadas en el suelo LIN. Los contenidos de los metales en las plantas de Ballica se relacionaron con las distintas fracciones en los suelos a través del ajuste de un modelo de Regresión Múltiple, encontrándose en general que la fracción soluble en ácido contribuyó positivamente en la absorción de Cu y Zn por las plantas cultivadas en suelos tratados con las distintas dosis de biosólido, en cambio para Cr y Pb la contribución de esta fracción fue significativa sólo cuando se trató el suelo con las dosis más altas de biosólido.

“Bioavailability of trace metals in soils treated with biosolid at different rates, using ryegrass plants as bioindicator”

SUMMARY

Biosolids application has been used as a low cost alternative for recovering degraded soils, due to its important macro and micronutrients content and organic matter. On the other hand, the application of biosolids on agricultural soils is one of the most feasible options for solving the disposal problem of these wastes on landfill, whose capacity and useful life would be limited in time. However, its application in soil could generate a real environmental and health problem, since these residues may contribute with pathogens and toxic compounds from organic and inorganic origin. Regarding the latter, heavy metals should be highlighted since they could accumulate in this environment, or depending on their chemical association with the various soil components they can be leached towards ground water and/or be assimilated by plants and then be transported both to animals and human beings through ingestion. Therefore it is necessary to be aware of the effect of incorporating these wastes on agricultural soils, concerning trace metals mobility and availability, such as Cr, Cu, Ni, Pb and Zn.

This study evaluates biosolids application at different rates (0, 15, 30, 45 and 60 Mg ha⁻¹) in relation to trace metals distribution such as Cu, Cr, Ni, Pb and Zn in two soil series located in the south of Santiago, Linderos (LIN) and Chada (CHD); classified as Inceptisol and Mollisol order respectively. Sequential extraction from BCR standardized methodology was used to obtain different chemical associations or trace metals fractions. Soil samples and soil-biosolids mixtures were incubated for sixty days to determine organic matter degradation in metal distribution and a ryegrass (*Lolium perenne*) cultivation was done to determine metal bioavailable fraction, which was related to metal chemical fractionation.

The results showed that the order of metal total content in biosolids was Zn > Cu > Cr > Ni > Pb. Except for Ni, metal concentrations were out maximum

concentrations allowed by the Chilean regulation for agricultural soil application. Concerning total content in soils, both had similar Cr content, but CHD soil showed higher Zn than LIN concentration, whereas the latter showed higher Cu, Pn and Ni concentrations. Usually, metals are predominantly found associated to oxides or to organic matter in biosolids, however a significant proportion of Zn was found in its most labile fraction.

The biosolids rate effects and the incubation process with respect to distribution variation of the studied metals were statistically evaluated through a multivariate analysis. It was found that biosolid rate influence was higher than the incubation process, and differences were significant only for Cu, Ni and Zn.

Regarding metal bioavailable fraction determination, it was found that this was higher for Cu and Zn. Bioavailability of these metals depended on soils, since higher metal concentrations were found in ryegrass cultivated in LIN soil. Metal contents in ryegrass plants were related to different fractions in soils, through the adjustment of a multiple linear regression model, finding that the acid soluble fraction contributed positively to Cu and Zn plant absorption in soils treated with different biosolid rates, on the other hand for Cr and Pb contribution of this fraction was significant only when soil was treated with the highest biosolid rate.

1.- INTRODUCCIÓN

En Chile, se ha desarrollado un plan de saneamiento de las aguas servidas, que tiene como objetivo evitar enfermedades asociadas al regadío con aguas contaminadas, proteger las aguas subterráneas, eliminando olores, recuperando espacios y patrimonios naturales.

Existen dos grandes plantas de tratamiento de aguas servidas en la Región Metropolitana: “El Trebal”, “La Farfana” y este año 2009 entrará en funcionamiento una tercera planta “Los Nogales”, que permitirá sanear el 100% de las aguas servidas de la Región Metropolitana. La Planta de tratamientos de aguas servidas “El Trebal”, descontamina el 23% del total de las aguas servidas generadas por los habitantes de la Cuenca de Santiago. Posee un caudal promedio de 4,4 m³ y produce aproximadamente cien toneladas de lodo sanitario con un 35 % de humedad. De mayor capacidad es la Planta “La Farfana”, ubicada en la comuna de Maipú. Es una de las más grandes del mundo y fue diseñada, especialmente, para tratar aproximadamente el 50% de las aguas servidas de Santiago, lo que conlleva la generación de grandes volúmenes de biosólidos o lodo estabilizado (CONAMA, 2001).

La aplicación de biosólidos proveniente de los tratamientos de aguas servidas, ha sido utilizado como una alternativa de bajo costo para la recuperación de los suelos agrícolas degradados, además de favorecer su productividad, pues contienen nutrientes indispensables para las plantas como: nitrógeno, fósforo, potasio (NPK), micronutrientes, y un elevado contenido de materia orgánica, que puede ayudar a mejorar la estructura del suelo e incrementar la capacidad de retención de agua (Artiola, 1996). Los lodos estabilizados, pueden servir como reemplazo o complemento de los fertilizantes tradicionales (King y col., 1974).

Actualmente, la aplicación de biosólidos en suelos agrícolas, aparece como una de las opciones más factibles para solucionar el problema de disposición de éstos en monorrellenos, cuyas capacidades y vida útil estarían limitadas en el tiempo. Sin embargo, se generan algunos inconvenientes al momento de

aplicarlos, pues desde el punto de vista ambiental y sanitario los lodos estabilizados presentan organismos patógenos, y compuestos tóxicos de naturaleza orgánica e inorgánica. Respecto de estos últimos, hay que destacar a los metales pesados. Se ha visto que si estos residuos se aplican continuamente a suelos agrícolas, los metales pesados pueden llegar a través de esta vía y acumularse (John y Van Laerhoven, 1976), o bien dependiendo de su asociación química con los distintos componentes del suelo, pueden ser asimilados por las plantas y ser traspasados a través de su consumo tanto a animales como a humanos, (Chang y col., 1982 y 1984). Esta situación ha llevado a imponer límites en la cantidad y la frecuencia de su aplicación en los suelos (Tsadilas y col., 1995). El organismo encargado de este proyecto de reglamentación es la Comisión Nacional del Medio Ambiente (CONAMA), este proyecto de norma considera 9 elementos traza a restringir a través de límites máximos permisibles para la disposición de biosólido en el suelo (Tabla 1), estableciendo como tasa máxima de aplicación de 30 Mg ha⁻¹, para suelos agrícolas con limitaciones para su aptitud frutal natural y/o en suelos forestales, y de 50 Mg ha⁻¹ en suelos degradados (INN 2007).

Tabla 1. – Concentraciones máximas permisibles de metales en biosólidos para la aplicación en suelos agrícolas o forestales, y en suelos degradados.

Suelo de Aplicación de biosólido	Concentración máxima (contenidos totales) [mg·kg ⁻¹ sobre base seca]								
	As	Cd	Cu	Hg	Mo	Ni	Pb	Se	Zn
Suelos Agrícolas	20	8	1000	4	10	80	300	50	2000
Suelos Degradados	40	40	1500	20	20	420	400	100	2800

En esta norma no fueron considerados, el Cr y el Co dado que sus niveles se encuentran en los suelos, dentro de los rangos normales.

Las características químicas del suelos como pH, materia orgánica, conductividad eléctrica, N, P, K disponibles, capacidad de intercambio catiónico (Sadzawka, 2000), y las características físicas como textura, y determinación de la capacidad de retención de agua (Klute, A. 1986), son una limitante para la aplicación de biosólidos en suelos (Iyengar y col., 1981).

El pH del suelo es un factor importante del control de solubilidad del metal y su movilidad (Anderson y Christensen, 1988). La solubilidad de la mayoría de los metales pesados aumenta al incrementar la acidez del suelo, con excepción de los metales presentes en forma de oxianiones o especies anfotéricas (Chaney, 1973).

Los suelos deben de cumplir algunas condiciones y características para poder aplicarles biosólidos, que tiene relación con su pendiente, estructura, permeabilidad, drenaje y profundidad efectiva, las que han sido determinadas por autoridades competentes en la materia (INN 2007, Art. 19). Otra condición primordial, es que los suelos deben presentar un contenido máximo de cada metal antes de la aplicación de biosólidos (Tabla 2).

Tabla 2. – Contenidos máximos de metales pesados y metaloides en suelos agrícolas, antes de una aplicación benéfica de biosólidos (INN 2007)

Zonas de Aplicación	Concentración máxima (contenidos totales) [mg·kg ⁻¹ sobre base seca] (*)									
	As	Cd	Cu	Hg	Mo	Ni	Pb	Se	Zn	
Macrozona Norte	pH > 6,5	20	2	150	1,5	2	112	75	4	175
	pH < 6,5	12,5	1,25	100	1	3	50	50	3	120
Macrozona Sur	pH > 5,0	10	2	75	1	3	30	50	4	175

(*) Concentraciones expresadas como contenidos totales

Si el biosólido no se aplica adecuadamente, puede afectar en forma negativa las características físicas del suelo, la calidad de las aguas y del aire, como además al cultivo presente en el suelo enmendado. Los biosólidos deben ir acompañados de una ficha técnica que debe contener la información necesaria para su buen uso y manejo (INN 2007).

La disponibilidad del metal es función de su distribución y forma química en el suelo. Los metales están asociados con distintos componentes del suelo, y es necesario conocer su distribución (Emmerich y col., 1982). De esta manera, se puede determinar su movilidad y disponibilidad. Estas formas químicas o asociaciones de los metales con los diferentes componentes del suelo, dan información sobre su comportamiento. Para su determinación, se utilizan metodologías de extracción secuencial o fraccionamiento químico, u otras de extracción continua (j. Shiwatana, 2001). Existen varios métodos de fraccionamiento, que se diferencian en el número de etapas de extracción, así como la secuencia y el tipo de reactivo. En general, los esquemas de fraccionamiento empiezan con los extractantes de menor capacidad de extracción y terminan con los de mayor capacidad de extracción, separando selectivamente los metales pesados asociados a diferentes componentes de la muestra en cada etapa de la extracción. Cabe destacar que el único método validado de extracción secuencial que existe, es el propuesto por la BCR (Community Bureau of Reference), que considera las fracciones: I) intercambiable, soluble en ácido que corresponde al metal soluble, intercambiable y asociado a carbonatos, II) reducible (metales asociados a FeOx y MnOx), III) oxidable (metales asociados a materia orgánica y a sulfuro) y IV) residual (Ure y col., 1993). Este método de fraccionamiento ha sido objeto de ciertas modificaciones (Rauret y col., 2000a y 2000b), que tiene relación específicamente con la disposición y movilidad de algún metal en una fracción puntual del suelo. La extracción secuencial además de determinar la distribución de las formas químicas de los metales pesados en el suelo nos permite estimar la fracción disponible del metal en el suelo, y que podría

llegar a ser biodisponible para las plantas. El contenido total de un contaminante, aun cuando es importante en una matriz ambiental, desde el punto de vista normativo, no tiene relación con la fracción realmente disponible para plantas y animales. La evaluación de la fracción biodisponible para las plantas se puede determinar mediante sistemas biológicos, los que requieren de tiempo y tienen un alto costo.

Las plantas pueden cambiar la disponibilidad del metal en forma directa e indirecta mediante diferentes mecanismos, como exudación de agentes complejantes, respiración de raíces, etc. (Hammer & Keller, 2002). No todas las plantas tienen la misma capacidad de absorción, que puede estar relacionada con la frecuencia y la cantidad de agua de riego que reciban los suelos, del tipo de suelo y de los tratamientos agronómicos aplicados. (Pascual, 2004). Además las plantas pueden producir cambios en las propiedades bioquímicas, químicas y físicas de la rizósfera que aumentan la difusión de los metales hacia las raíces, aunque la absorción de los metales por sus raíces no depende sólo de la cantidad de los metales presente en forma disponible o de la disponibilidad de las plantas para transferirlos. Los cambios producidos en la rizósfera también puede surgir de otros procesos donde las raíces no son directamente responsables, como la actividad de microorganismos que son estimulados en sus cercanías (Jones, 2004).

2.- OBJETIVOS

2.1- Objetivos Generales

1.- Evaluar la disponibilidad de metales traza (Cu, Cr, Ni, Pb y Zn) en suelos tratados con un biosólido en distintas dosis.

2.- Relacionar las distintas asociaciones químicas o fracciones de los metales trazas en suelos tratados con biosólido en distintas dosis, con su biodisponibilidad, utilizando plantas de Ballica como bioindicador.

2.2- Objetivos Específicos

1.- Realizar una caracterización de las muestras de suelos y biosólidos.

2.- Determinar los contenidos totales de los metales traza y sus distintas asociaciones químicas con los componentes del biosólidos, suelo y mezclas suelo-biosólido.

3.- Determinar la absorción de metal traza a través de cultivos de Ballica en suelos y en suelos tratados con distintas dosis de biosólidos.

4.- Interpretar estadísticamente los resultados.

3.- MATERIALES Y MÉTODOS

3.1- Descripción de las muestras

● Suelo.

Las muestras fueron obtenidas del nivel superficial (0 a 20 cm de profundidad), de suelos agrícolas de la Región Metropolitana. Se seleccionaron dos series de suelos, Chada (CHD), y Linderos (LIN), ubicadas al sur de la ciudad de Santiago (Tabla 3). Se almacenaron en bolsas de polietileno, para su traslado al laboratorio. Las muestras recolectadas fueron secadas al aire, disgregadas y tamizadas, utilizando un tamiz plástico de 2 mm de abertura, y luego almacenadas en frascos de polietileno de alta densidad, a temperatura ambiente.

Tabla 3.- Descripción de los suelos seleccionados.

Serie Suelos	Nombre	Ubicación	Orden	Textura
Linderos	LIN	6263 Km Lat UTM 340,9 Km Long UTM	Inceptisol	Franco
Chada	CHD	6253,4 Km Lat UTM 348,8 Km UTM	Mollisol	Franco Limoso

● Biosólido.

Se utilizó un lodo estabilizado anaeróbicamente, proveniente de las canchas de monorelleno de la planta de tratamiento de aguas servidas “El Trebal”, ubicada en la Región Metropolitana. El muestreo del biosólido fue realizado el 7 de Mayo del 2008 y corresponde a la mezcla de lodos de los meses noviembre y diciembre del año 2007.

● **Ensayo de Incubación.**

Las muestras de suelo y las respectivas mezclas suelo-biosólido, en dosis 0, 15, 30, 45 y 60 Mg ha⁻¹ de biosólido, fueron incubadas en condiciones de capacidad de campo pre-establecidas, a temperatura constante de 25° C por un periodo de 0 y 60 días en un incubador New Brunswick Scientific Classic Series C24 Incubator Shaker.

● **Ensayo de Invernadero – Cultivo de Ballica (*Lolium Perenne*).**

Se utilizaron 20 macetas plásticas de 20 cm x 10 cm y 15 cm de alto, en las cuales se colocó en el fondo una malla plástica como soporte para el cuarzo, que tiene como objetivo impedir la pérdida de la mezcla de suelo-biosólido. Posteriormente, en cada maceta se agregó la mezcla de suelo-biosólido (previamente homogenizada) en las distintas dosis, 0, 15, 30, 45, 60 Mg ha⁻¹, tanto para LIN, como para CHD en duplicado. Se regaron a capacidad de campo por 3 días, a temperatura ambiente. Para cada sistema, se pesaron 5 g de semilla de Ballica, que fueron cubiertas con una pequeña cantidad de mezcla correspondiente a dicho sistema.

Cuatro días después de la siembra se observan los primeros brotes de plantas, las cuales se fueron regando diariamente a capacidad de campo.

Los periodos de luz en el invernadero fueron controlados automáticamente en una relación de 14/10 hrs (día/noche), con una variación de la temperatura ambiente de ± 5°C.

- **Preparación de las muestras de plantas de Ballica a partir del Ensayo de Invernadero.**

A partir del brote y pasado 35 días se procede a preparar las muestras de plantas de Ballica para analizar. La preparación consiste en separar totalmente las plantas de las mezclas suelos-biosólido. Esto se hace sacando el exceso de mezcla que quede en la planta luego de haberla desmoldado de la maceta. La planta completa, raíz más tallo, se lava con agua destilada en donde se limpia completamente de la mezcla suelo-biosólido, y se deja secando por tres días a 30° C en una estufa. Luego, la muestra seca es molida en un molino para granos CG925, para adquirir una muestra fina y homogénea para facilitar la digestión y posterior análisis.

Por otro lado, cada mezcla suelo-biosólido de las macetas, es recolectada en forma cuantitativa y molida con un mortero de ágata, tamizada en un tamiz plástico de 2 mm de abertura y homogenizada, para llevarla a digestión y someterla a la determinación de los metales traza a través de espectroscopia de absorción atómica con llama (FAAS), utilizando un espectrofotómetro Perkin Elmer 1100B.

3.2- Caracterización general de los suelos y biosólido.

Los suelos controles y el biosólido fueron caracterizados a través de determinaciones de pH (pH-H₂O), capacidad de intercambio catiónico (CIC), contenido de materia orgánica y humedad (Sadzawka, 2000).

● **Determinación de humedad**

Se pesó exactamente alrededor de 5 g de muestra y se secó en estufa a 105° C hasta peso constante. Luego por diferencia de pesos se obtiene el porcentaje de humedad para calcular el factor de humedad.

● **Determinación de pH**

El pH de las muestras de suelos y biosólido, se determinó en una porción de 1:2,5 (muestra:líquido) potenciométricamente con un electrodo combinado de vidrio-calomelano, en el sobrenadante de la suspensión muestra/H₂O, después de ser agita por dos horas.

● **Determinación de la materia orgánica (MO)**

Se determinó por el método de Metson, que consiste en una combustión húmeda de la materia orgánica con una mezcla de dicromato de sodio en medio H₂SO₄. Después de la reacción, se cuantifica colorimétricamente el cromato reducido, en un espectrofotómetro Unicam UV-2 (UV-Visible), con celdas de 1 cm, a una longitud de onda de 600 nm.

● **Determinación de la capacidad de intercambio catiónico (CIC)**

Se determinó por saturación con acetato de sodio a pH 7,0, en donde el sodio adsorbido se intercambió por amonio. El sodio se determinó por espectroscopia de emisión atómica, en un espectrofotómetro Perkin Elmer 1100 B.

3.3.- Determinación de Cu, Zn, Ni, Pb y Cr en muestras de suelos, biosólido y mezclas de suelo-biosólido

● Metales Totales

Se pesó por triplicado alrededor de 200 mg de muestra de los suelos, biosólido y mezcla de suelo-biosólido y las mezclas suelo-biosólido de las macetas una vez extraídas las plantas. La digestión se realizó en un horno microondas (Milestone, modelo mls 1200 mega), en donde se adicionaron 4 mL de HNO₃ 65%, 4 mL HF 32% y 2 ml de H₂O₂ 37 %. Fue utilizado un programa de tres etapas: 5 minutos a 250 W, 5 minutos a 400 W y 10 minutos a 500 W, con 1 min de ventilación.

Las muestras fueron arrastradas con agua destilada a cápsulas de teflón, donde se eliminó el HF por evaporación en una plancha calefactora, hasta la salida de vapores blancos y posteriormente se transfirieron a matraces aforados de 10 mL con HCl 1 M. Posteriormente, fueron filtradas con papel Advantec MFS grado N°2. Los extractos así obtenidos se almacenaron en frascos de polietileno, y se conservaron bajo refrigeración para su posterior análisis por Espectrofotometría de Absorción Atómica con llama (FAAS), Perkin Elmer 1100B.

● Extracción Secuencial

En un tubo de centrifuga se pesó exactamente en triplicado alrededor de 0,5 g de muestra de suelo y mezcla de suelo-biosólido, previamente molida con un mortero de ágata y homogenizada. Posteriormente a cada muestra se agregó la solución extractante correspondiente a cada etapa según la Tabla 4. Se centrifugó y se separó el líquido sobrenadante. Este último se almacenó en recipientes plásticos para su posterior análisis.

El residuo de cada tubo de centrifuga fue lavado con 10 mL de agua destilada, y nuevamente centrifugado. El agua de lavado fue eliminada, y se

registró el peso del tubo más el residuo para corregir volúmenes, dando paso a la etapa siguiente.

Tabla 4.- Etapas del Fraccionamiento Químico, BCR.

Etapa	Solución Extractante	Tratamiento	Suelo (g): Solución(ml)
F1: Fracción Soluble en Ácidos (MCO ₃)	CH ₃ COOH 0,11M	Agitación por 16 horas a 18±5°C, centrifugar por 20 minutos	1:40
F2: Fracción Reducible (FeOx/MnOx)	NH ₂ OH·HCl 0,5 M + HNO ₃ 2 M	Agitación por 16 horas a 18±5°C, centrifugar por 20 minutos	1:40
F3: Fracción Oxidable (MO)	A) H ₂ O ₂ 30%	<ul style="list-style-type: none"> • 2 ml de A y 1 h a temp. ambiente, 1 ml de A y 1 h en baño de agua a 85±2°C. Volver a agregar 2 ml H₂O₂, y calentar 1h baño de agua a 85±2°C 	1:10
	B) NH ₄ OAc 1M	<ul style="list-style-type: none"> • Agitación por 16 horas a 22±5°C, centrifugar por 20 minutos 	1:50
F4: Fracción Residual	Metal Total – Fracciones		

3.4.- Determinación del contenido total de metales en las plantas de Ballica.

Se pesó exactamente alrededor de 0,5 a 1,0 g de muestra de plantas de Ballica, en duplicado y se digirió en un horno microondas, en donde se adicionaron 4 mL de HNO₃ 65% y 2 ml de H₂O₂ 37 %. Fue utilizado un programa de tres etapas: 5 minutos a 250 W, 5 minutos a 400 W y 10 minutos a 500 W, con 1 min de ventilación. Las muestras fueron arrastradas con agua destilada a matraces aforados de 20 mL. Posteriormente, fueron filtradas con papel Advantec MFS grado N°2. Los extractos así obtenidos se almacenaron en frascos de polietileno, y se conservaron refrigerados para su posterior análisis por Espectrometría de Absorción Atómica con llama (FAAS), en un espectrofotómetro Perkin Elmer 1100B.

4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 - Caracterización de los suelos y biosólido.

En la Tabla 5 se muestran algunas características generales de los suelos y del biosólido. Con respecto al pH, se encontró que el del suelo CHD fue cercano a neutro y que el del suelo LIN fue levemente básico. El contenido de materia orgánica que presentan ambos es característico de las series seleccionadas, siendo mayor el del suelo CHD.

En el caso del biosólido, el pH fue cercano a neutro y como era de esperar el contenido de materia orgánica (MO) fue más alta que la de los suelos, lo cual sería beneficioso ya que mejoraría la estructura y aumentaría la actividad microbológica de estos suelos (Banerjee M.R, 1997). En cuanto a la capacidad de intercambio catiónico (CIC), fue mayor para el suelo CHD, lo cual podría coincidir con su mayor contenido de MO.

Tabla 5.- Características generales de suelos y biosólidos

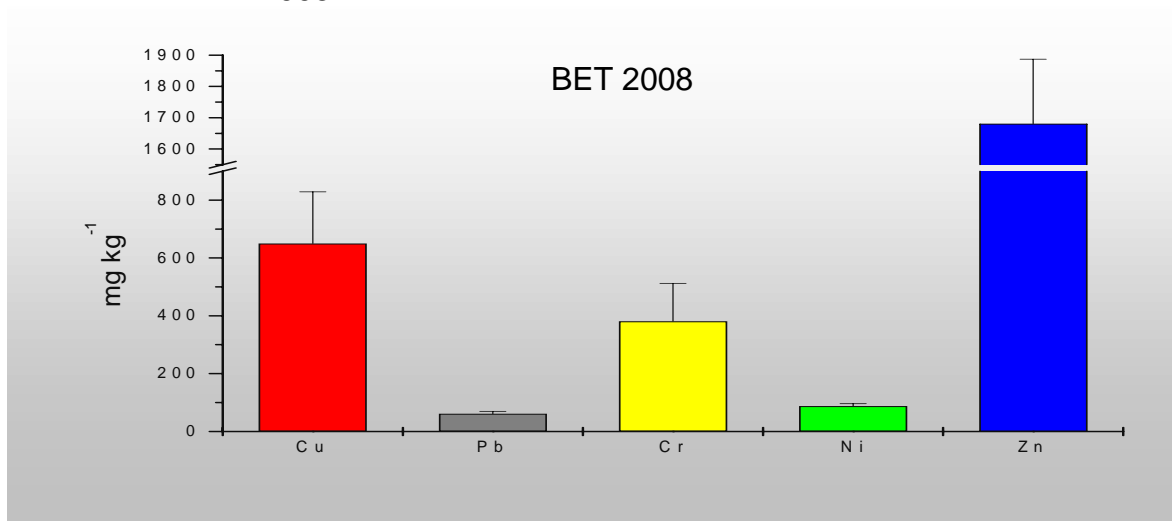
		Suelos		Biosólido
		CHD	LIN	ET-2008
Materia Orgánica	%	2,67	1,74	31,5
pH (H₂O) 1:2,5		7,23	7,77	6,84
CIC	cmol ⁺ kg ⁻¹	23,2	21,17	31,0

4.2.- Contenido total de metales en las muestras.

● Contenido total de metales en el biosólido.

Se encontró que el orden en el contenido total de los metales en el biosólido fue el siguiente: Zn > Cu > Cr > Ni > Pb. (Figura 1). Los resultados obtenidos en años anteriores para biosólidos de la misma planta, han mostrado siempre una predominancia de Zn, Cu, y Cr. (Ahumada, 2009).

Figura 1.- Contenido total de Cu, Pb, Cr, Ni, y Zn en el biosólido ET-2008



En la Tabla 6 se muestra que de acuerdo a la norma chilena las concentraciones de los metales presentes en el biosólido con excepción de Ni están bajo las concentraciones máximas permitidas (INN 2007).

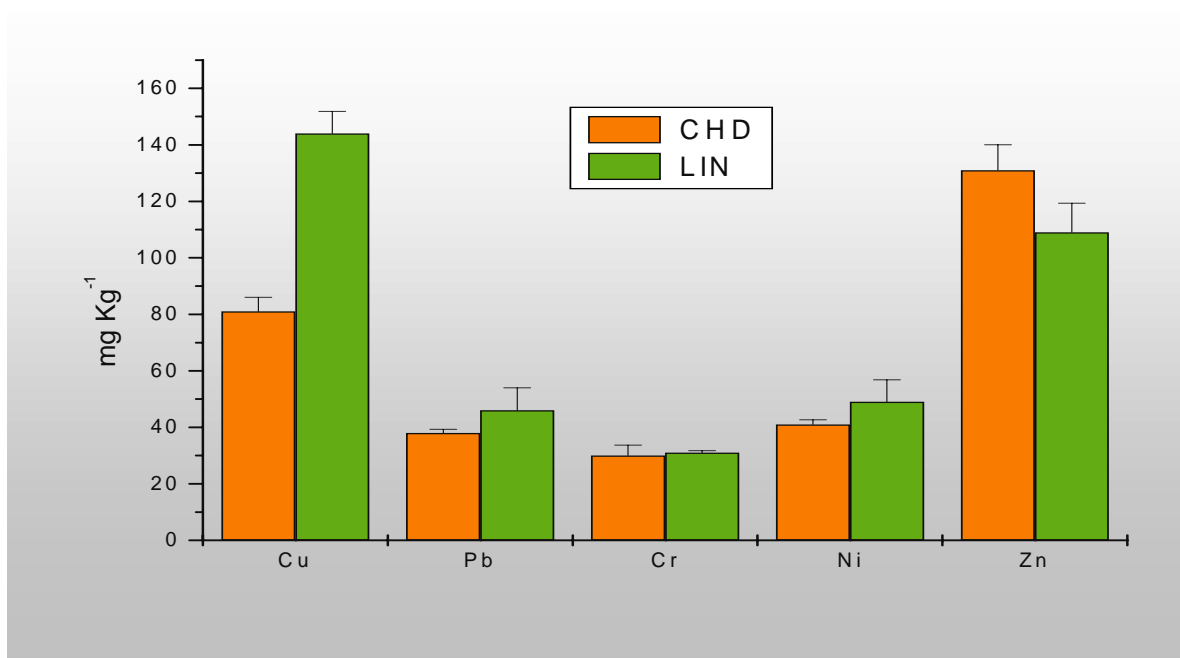
Tabla 6.- Comparación de los contenidos totales de BET2008 con la norma chilena.

Biosólidos	Concentración máxima (contenidos totales) [mg·kg ⁻¹ sobre base seca]				
	Cu	Pb	Cr	Ni	Zn
NCH 2007	1000	300	-----	80	2000
BET 2008	650	61	381	88	1681

● Contenido total de metales en los suelos CHD y LIN.

Respecto de los contenidos totales, se encontró que el suelo CHD posee mayor concentración de Zn, en cambio el suelo LIN presentó mayor concentración de Cu, Pb y Ni, además ambos suelos mostraron similar concentración de Cr. (Figura 2).

Figura 2.- Contenido total de Cu, Pb, Cr, Ni y Zn en los suelos CHD y LIN



Los dos suelos en estudio son considerados aptos para ser enmendados con biosólidos, pues cumplen con los parámetros físicos y químicos previamente establecidos según la norma chilena (INN 2007).

● Contenido total de metales en los suelos CHD y LIN enmendados con biosólido ET-2008.

La incorporación del biosólido a los suelos generalmente incrementó el contenido de los metales (Tabla 7y Figura 3). Para el caso del Cu en el suelo CHD, al incorporar 45 Mg ha⁻¹ se produjo un incremento significativo, a diferencia

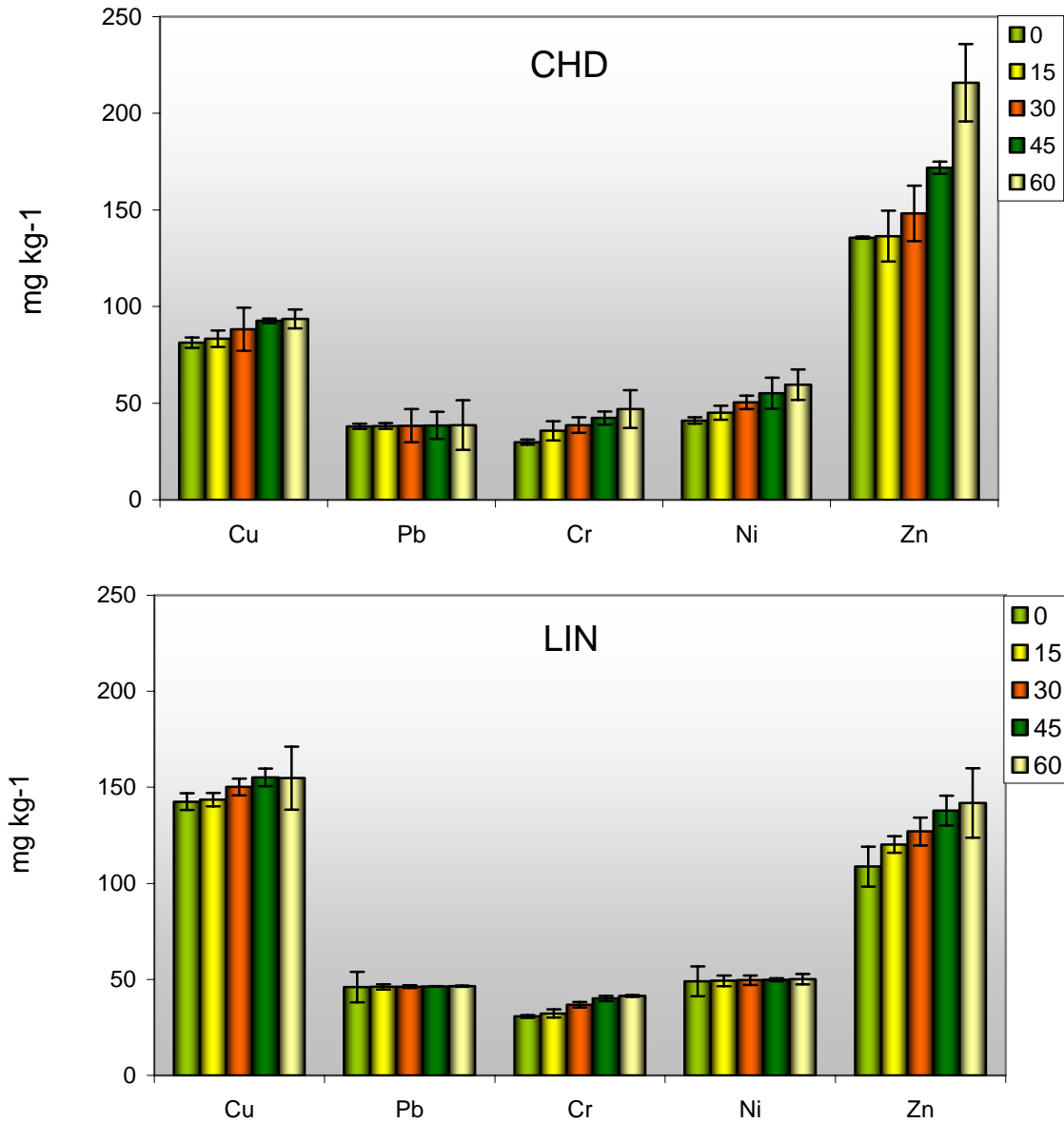
del suelo LIN que no presentó diferencia con la dosis de biosólido. Aunque el contenido total de Pb fue aumentando con la dosis del biosólido, esta diferencia en el suelo CHD fue significativa cuando se acondicionó el suelo con las dosis de biosólido más alta, en cambio, en el suelo LIN sólo se encontraron diferencias significativas, cuando se incorporó al suelo, el biosólido en dosis de 30 Mg ha⁻¹ o mayores a ésta. La aplicación de biosólido también incrementó la concentración de Cr y Ni, cabe hacer notar que en el suelo LIN se produjo un incremento significativo a partir de la dosis 30 Mg ha⁻¹ de biosólido. Respecto de Zn, la incorporación del biosólido incrementó significativamente la concentración de este metal, observándose incrementos del 60 % en el suelo CHD y 30% en el suelo LIN del contenido total de Zn, respecto del suelo control, al tratarlos con las dosis más altas de biosólido, lo cual es esperable debido al alto contenido de Zn en el biosólido. Resultados similares fueron encontrados con otros suelos chilenos enmendados con biosólidos del mismo tipo (Ahumada, 2004).

Tabla 7.- Contenido total de Cu, Pb, Cr, Ni y Zn en mezclas de suelo-biosólido, a 0,15, 30, 45 y 60 Mg/ha.

Suelos	Dosis Mg ha ⁻¹	Contenido total de los metales en mg kg ⁻¹				
		Cu	Pb	Cr	Ni	Zn
CHD	0	81,3 a*	37,8 a	29,8 a	41,3 ab	136 a
	15	83,3 a	38,1 a	35,7 ab	45,0 ab	136 a
	30	88,2 a	38,3 a	38,6 ab	50,4 ab	148 a
	45	92,6 ab	38,5 ab	42,3 b	55,1 bc	172 ab
	60	93,6 b	38,7b	46,9 b	59,6 c	216 b
LIN	0	142 a	46,0 a	30,7 a	49,2 a	109 a
	15	144 a	46,1 ab	32,3 a	49,3 a	120 ab
	30	150 a	46,2 b	36,8 b	49,6 a	127 ab
	45	155 a	46,3 b	40,1 c	49,8 a	138 b
	60	155 a	46,4 c	41,4 c	50,1 b	142 b

*Para las muestras de suelo, en la misma columna seguidos por la misma letra no presentan diferencias estadísticamente significativas para P<0.05 de acuerdo a Tukey.

Figura 3.- Contenido total de Cu, Pb, Cr, Ni y Zn en suelos CHD y LIN tratados con biosólido en distintas dosis (0, 15, 30, 45 y 60 Mg ha⁻¹).



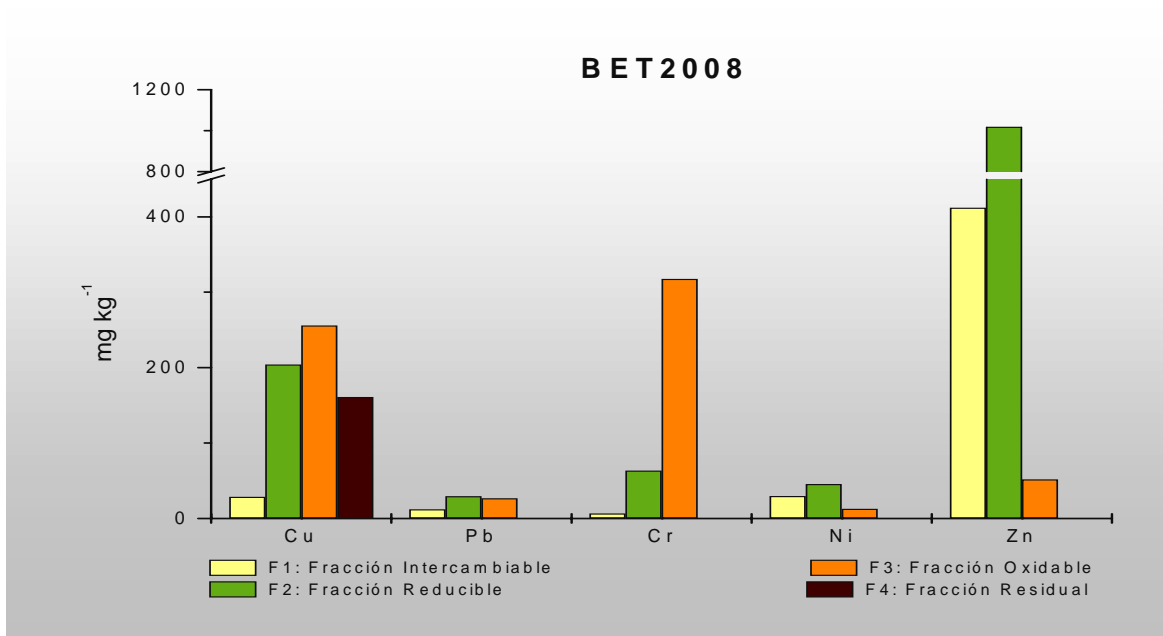
4.3.- Fraccionamiento químico de los metales, en muestras de biosólido y suelos tratados con biosólido en dosis 0, 15, 30, 45 y 60 Mg ha⁻¹.

4.3.1.- Biosólido

Se encontró en el biosólido que la distribución de las formas químicas fue distinta para cada metal (Figura 4). Para Cu la fracción predominante fue la asociada con la materia orgánica (F3), siguiendo en importancia la fracción reducible (F2) y luego la residual (F4). El Cr está predominantemente asociado a la materia orgánica, seguido de la fracción unida a óxidos. En cambio para Pb y Ni, la fracción más importante fue la F2 que corresponde a la asociada a óxidos de Fe y Mn. Por otra parte cabe hacer notar, que la fracción lábil de Ni también es destacable, ya que correspondería al 34 % del contenido total de este metal en el biosólido. Respecto de Zn, éste se encontró mayoritariamente unido a óxidos (F2).

De todos los metales, cinc es el que presentó la mayor concentración en la forma lábil, lo que implicaría mayor movilidad de este metal hacia otro sustrato. Investigadores de New Zeland encontraron también, que una gran proporción de Zn en biosólidos enriquecidos con este metal fue encontrada en fracciones más lábiles como: soluble, intercambiable y específicamente sórbido (McLaren and Clucas, 2001).

Figura 4.- Distribución de las formas químicas de Cu, Cr, Pb, Ni y Zn en el biosólido.



4.3.2.- Distribución de metales en suelos tratados con biosólido en dosis 0,15, 30, 45 y 60 Mg ha⁻¹.

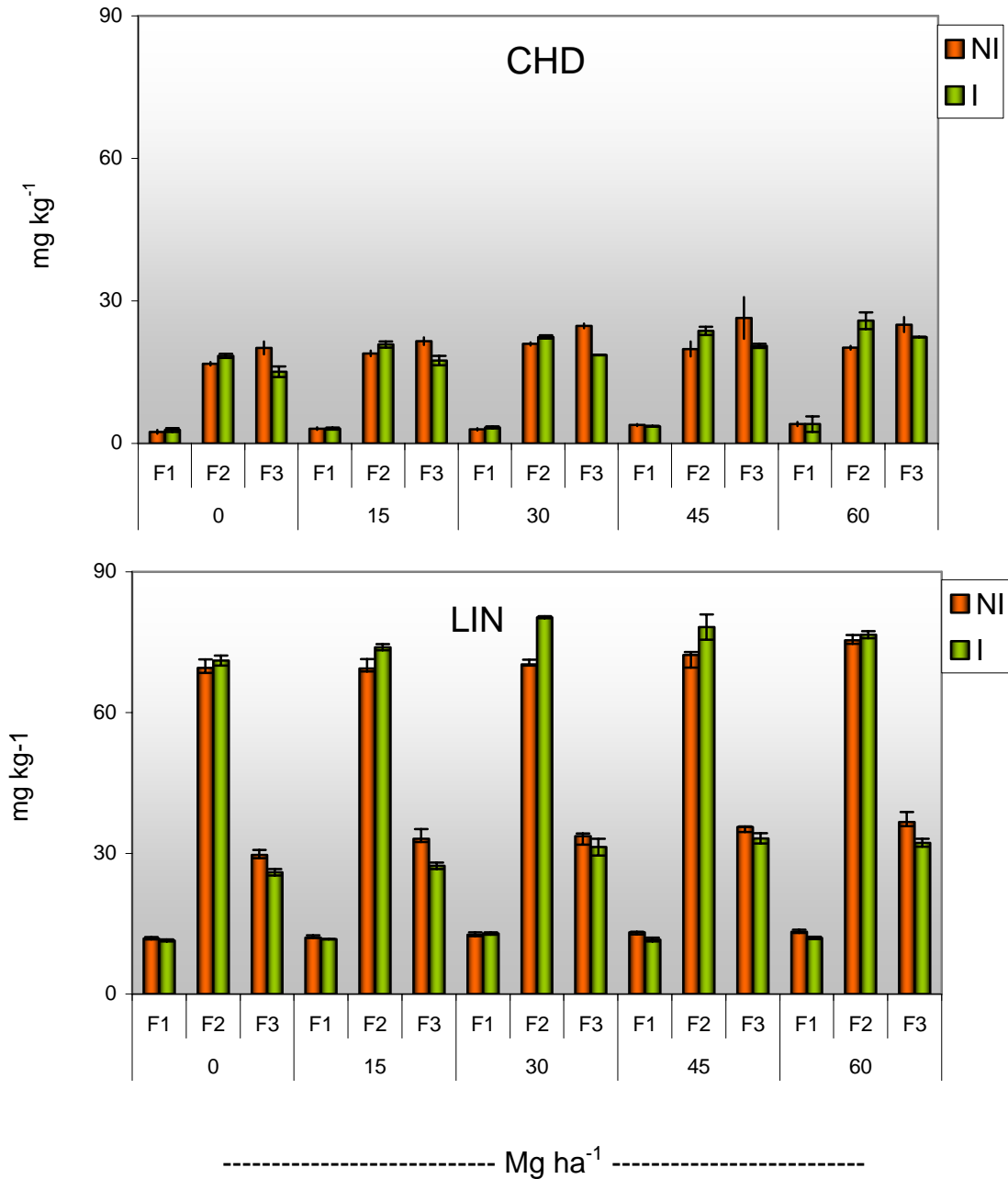
● Cobre

En ambos suelos, se encontró que la fracción de Cu soluble en ácido, que correspondería a la fracción más lábil de este metal, fue la más baja, tanto antes de la incubación, como después de ésta (Figura 5). En el suelo CHD la fracción de Cu asociada a la materia orgánica (F3) fue la más importante, seguida de la fracción de Cu asociada a óxidos. Después de la incubación, esta última fracción fue mayor que la asociada a la materia orgánica, lo cual se debería a la degradación de la materia orgánica, por tanto el cobre asociado inicialmente a éste, después de la incubación ocuparía los sitios libres de los óxidos de Fe y Mn.

En cambio en el suelo LIN no se observó este fenómeno tanto antes de la incubación, como después de ésta, en este suelo el orden de las fracciones fue siempre el mismo, predominando en todos los casos la forma de Cu ligada con la materia orgánica.

Al analizar estadísticamente las diferencias observadas respecto de los efectos dosis de biosólido y tiempo de incubación a través del análisis multifactorial (Tabla 8), se encontró que para el suelo CHD, todas las fracciones de Cu aumentaron significativamente con la dosis de biosólido, mientras que el proceso de incubación incrementó sólo la fracción de este metal asociada a los óxidos (F2), por otra parte se encontró que la incubación disminuyó la fracción de Cu asociado a la materia orgánica (F3), lo cual se podría deber a la degradación de esta última (P.R Presquez,1990). En el caso del suelo LIN sólo aumentaron significativamente con la dosis de biosólido las fracciones asociadas a óxidos (F2) y a la MO (F3). El proceso de incubación en este suelo influyó significativamente en la fracción reducible (F2) produciendo un incremento de esta fracción.

Figura 5.- Distribución de las formas químicas de Cu en los suelos CHD y LIN, tratados con 0, 15, 30, 45 y 60 Mg ha⁻¹ de biosólido.



F1: Fracción de Cu soluble en ácidos; F2: Fracción de Cu reducible; F3: Fracción de Cu oxidable. 0, 15, 30, 45 y 60 corresponden a las dosis de biosólido en Mg ha⁻¹. NI: no incubadas; I: incubadas.

Tabla 8.- Fraccionamiento de Cu en los suelos CHD y LIN, incluyendo el análisis multifactorial que evaluó los efectos: dosis de biosólidos y tiempo de incubación.

Fracción del suelo	Dosis de Biosólido Mgha ⁻¹	Cu mgkg ⁻¹ antes de incubar	Factores		Cu mgkg ⁻¹ después de incubar
			Dosis de Biosólido	Tiempo de incubación	
CHA-F1	0	2,4	+	NS	2,4
	15	3,1			3,1
	30	3,0			3,4
	45	3,9			3,6
	60	4,3			4,3
CHA-F2	0	17	+	+	18
	15	19			21
	30	21			22
	45	20			24
	60	20			26
CHA-F3	0	20	+	-	15
	15	22			17
	30	25			19
	45	26			29
	60	25			25
LIN-F1	0	12	NS	NS	11
	15	12			12
	30	13			13
	45	13			12
	60	13			12
LIN-F2	0	70	+	+	71
	15	69			74
	30	70			80
	45	72			78
	60	75			77
LIN-F3	0	30	+	-	26
	15	33			27
	30	34			31
	45	36			33
	60	37			32

(+): Influencia positiva estadísticamente significativa ($p < 0.05$); (-): Influencia negativa estadísticamente significativa. NS: No existe influencia estadísticamente significativa.

● **Plomo**

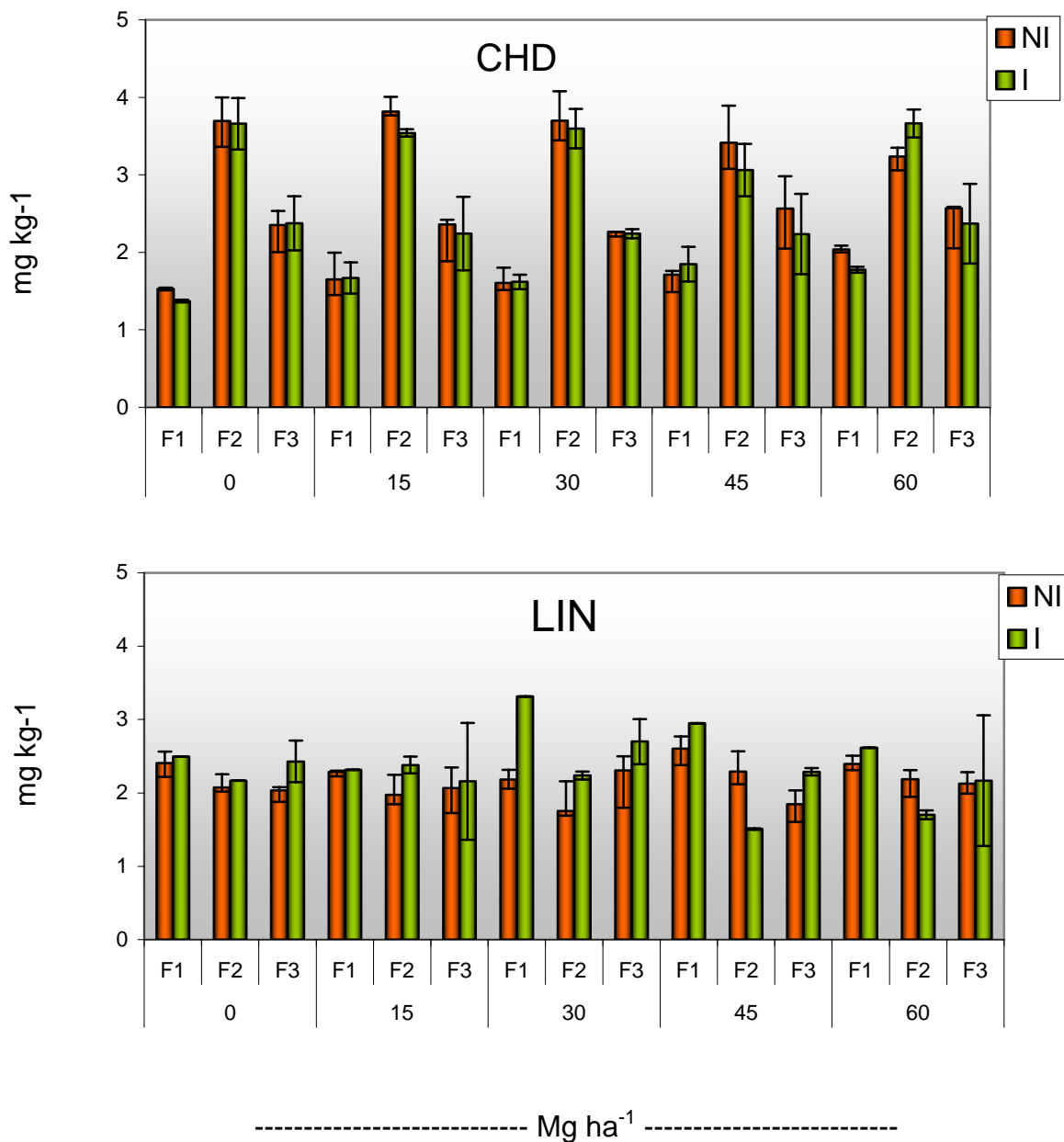
La mayor parte del Pb en los suelos se encontró en la fracción residual que correspondió para el suelo CHD a un 80% y para el suelo LIN a un 95% de la concentración total de éste (Anexo, Tabla 7.4 y Tabla 7.5). El resto fue extraído secuencialmente y se distribuyó en el suelo CHD, principalmente en la fracción reducible, mientras que en el suelo LIN se encontró distribuido uniformemente en las tres fracciones (F1, F2 y F3) (Figura 6). En ambos suelos los factores dosis de biosólido y el proceso de incubación no influyeron significativamente en la distribución de este metal, lo cual se puede atribuir al bajo contenido de Pb total en el biosólido (61 mg/kg).

● **Cromo.**

Similar a Pb, la mayor parte de Cr se encontró en la fracción inerte o residual (F4) (Anexo, Tabla 7.6 y Tabla 7.7) En ambos suelos correspondió casi al 95% del contenido total. Cuando los suelos fueron tratados con el biosólido, la relación de la fracción residual con respecto al contenido total de Cr fue disminuyendo, sobre todo cuando estos fueron tratados con las dosis más altas de biosólido, alcanzando valores respectivamente para los suelos CHD y LIN de 70% y 75 % del total de Cr.

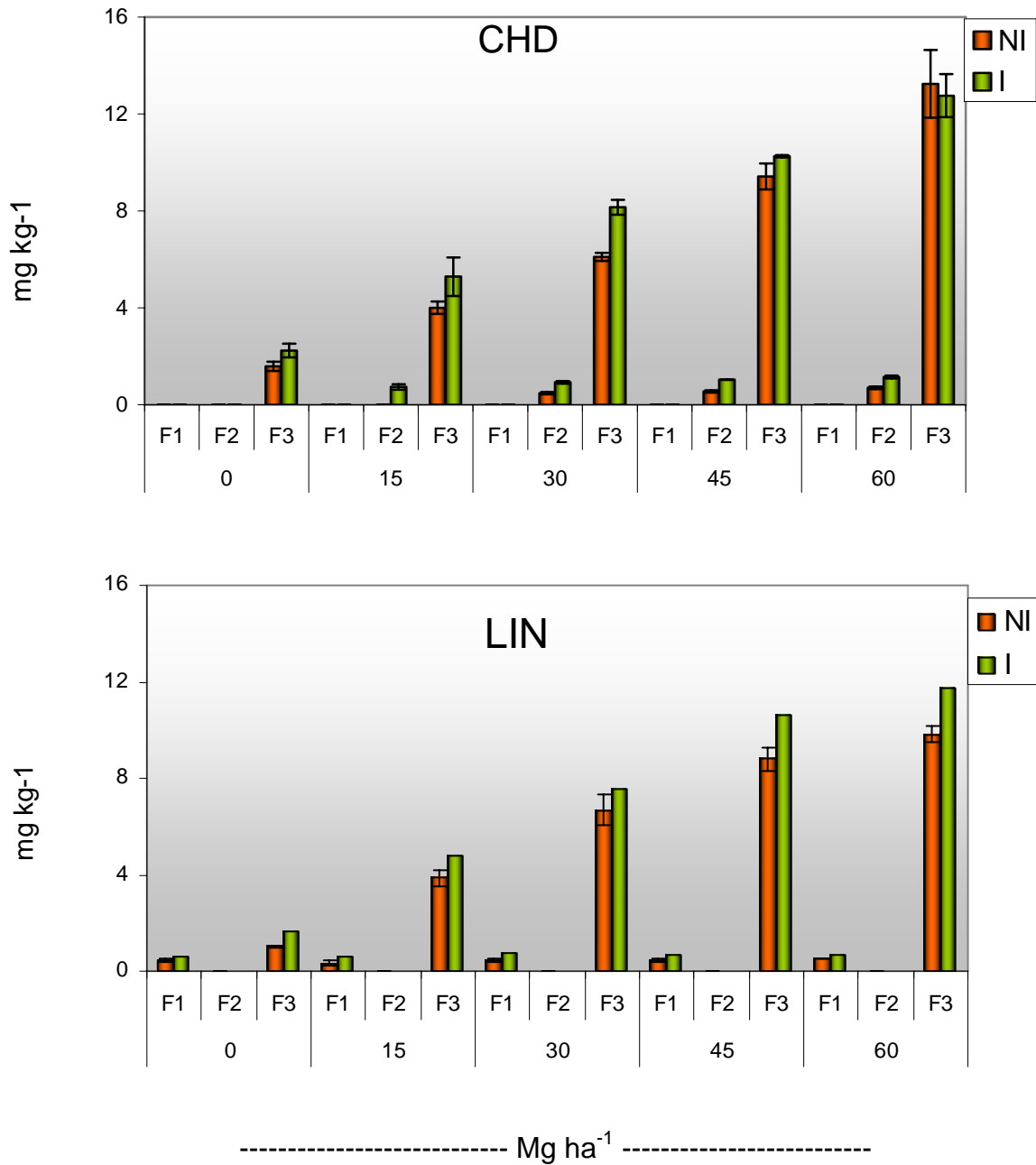
En la Figura 7, se encuentra la distribución de Cr, se aprecia que la distribución de las fracciones de Cr en los suelos fue diferente. En el suelo CHD sin tratar con biosólido, el Cr, sólo se encontró unido a la materia orgánica, mientras que en el suelo LIN se distribuyó principalmente entre la fracción soluble en ácido y la fracción de Cr unida a la materia orgánica. Cuando se aplicó el biosólido a distintas dosis, en el suelo CHD, además del notable incremento de la fracción de Cr asociada a la MO, también fue observada la aparición de la fracción de Cr unida a óxidos, que fue aumentando con la dosis del biosólido.

Figura 6.- Distribución de las formas químicas de Pb en los suelos CHD y LIN tratados con 0, 15, 30, 45 y 60 Mg ha⁻¹ de biosólido.



F1: Fracción de Pb soluble en ácidos; F2: Fracción de Pb reducible; F3: Fracción de Pb oxidable. 0, 15, 30, 45 y 60 corresponden a las dosis de biosólido en Mg ha⁻¹. NI: no incubadas; I: incubadas.

Figura 7.- Distribución de las formas químicas de Cr en los suelos CHD y LIN tratados con 0, 15, 30, 45 y 60 Mg ha⁻¹ de biosólido.



F1: Fracción de Cr soluble en ácidos; F2: Fracción de Cr reducible; F3: Fracción de Cr oxidable. 0, 15, 30, 45 y 60 corresponden a las dosis de biosólido en Mg ha⁻¹. NI: no incubadas; I: incubadas.

● **Níquel**

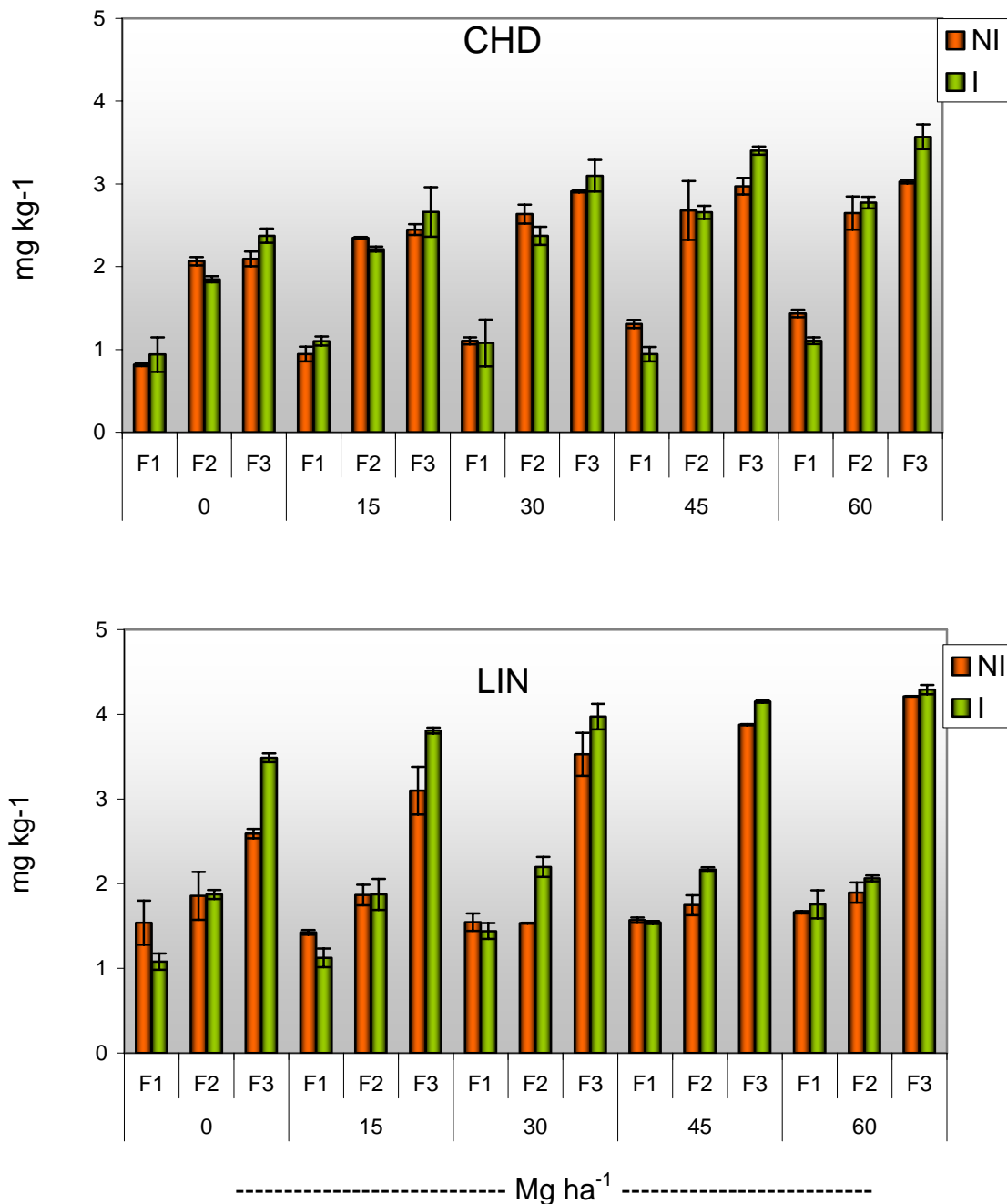
En ambos suelos control, la mayor parte del Ni, correspondió a la fracción residual, que es la forma más inerte de este metal, ya que sólo se logró extraer secuencialmente sólo un 12 % de su concentración total (Anexo, Tabla 7.8 y Tabla 7.9). Al aplicar el biosólido se observó sólo en el suelo LIN una disminución de la fracción residual (Anexo, Tabla 7.9). En ambos suelos este metal se distribuyó en las tres fracciones en el siguiente orden: Ni-MO > Ni-Ox > Ni- soluble en ácido. Cuando se aplicó el biosólido, en ambos suelos, se encontró que la mayoría de las fracciones de Ni aumentaron (Figura 8). El análisis multifactorial indicó con excepción de la fracción de Ni asociado a óxidos (F2), que el factor dosis de biosólido, en los dos suelos produjo un incremento significativo de todas las fracciones de este metal. En cambio el proceso de incubación sólo incrementó significativamente la fracción de este metal asociada a la materia orgánica (F3) (Tabla 9).

● **Cinc**

En los suelos control, Zn se encontró predominantemente asociado a óxidos y a la materia orgánica. Una parte importante de Zn se encontró en la forma lábil, la cual en ambos suelos es incrementada con la dosis de biosólido (Figura 9).

Los resultados del análisis estadístico (Tabla 10) muestran que para el suelo CHD la dosis de biosólido aumentó significativamente la fracción lábil (F1) y la fracción reducible (F2). Por otro lado el proceso de incubación, aumentó significativamente la fracción de Zn asociada a los óxidos y a la materia orgánica. Para el suelo LIN en cambio, se encontró un incremento de todas las fracciones a medida que fue aumentando la dosis de biosólido. Además, se observó que el factor incubación no afectó la distribución de Zn en este suelo. En investigaciones similares donde los suelos fueron enmendados con biosólido en forma repetida, se encontró que éstos se fueron enriqueciendo en este metal. (Mbila, 2001)

Figura 8.- Distribución de las formas químicas de Ni en los suelos CHD y LIN tratados con 0, 15, 30, 45 y 60 Mg ha⁻¹ de biosólido.



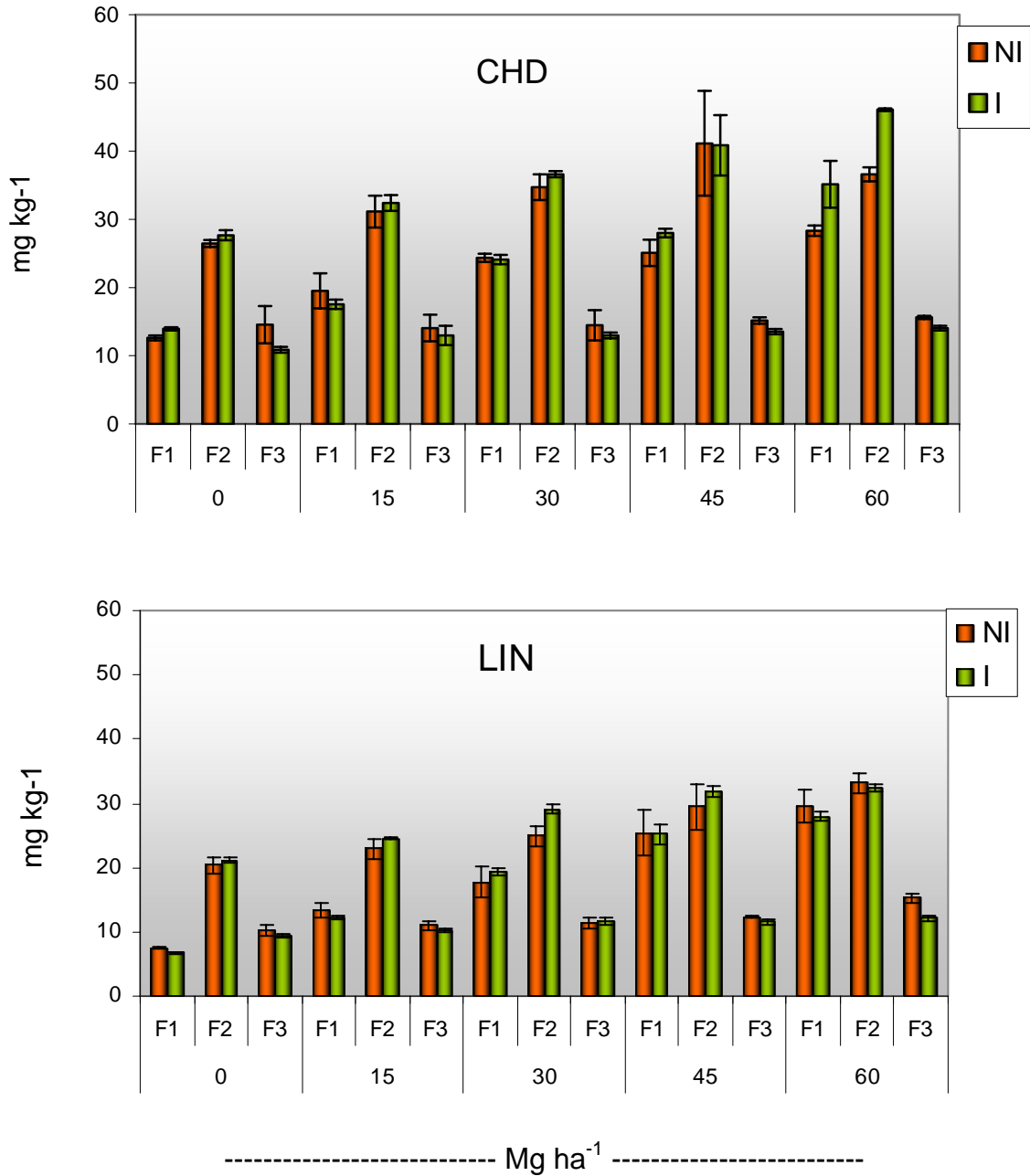
F1: Fracción de Ni soluble en ácidos; F2: Fracción de Ni reducible; F3: Fracción de Ni oxidable. 0, 15, 30, 45 y 60 corresponden a las dosis de biosólido en Mg ha⁻¹. NI: no incubadas; I: incubadas.

Tabla 9.- Fraccionamiento de Ni, en los suelos CHD y LIN tratados con biosólido. Análisis multifactorial que considera los efectos: dosis de biosólidos y tiempo de incubación.

Fracción del suelo	Dosis de Biosólido Mgha ⁻¹	Ni mgkg ⁻¹ antes de incubar	Factores		Ni mgkg ⁻¹ después de incubar
			Dosis de Biosólido	Tiempo de incubación	
CHA-F1	0	0,82	+	NS	0,94
	15	0,94			1,1
	30	1,1			1,1
	45	1,3			0,94
	60	1,4			1,1
CHA-F2	0	2,1	+	-	1,8
	15	2,3			2,2
	30	2,6			2,4
	45	2,7			2,7
	60	2,6			2,8
CHA-F3	0	2,1	+	+	2,4
	15	2,4			2,7
	30	2,9			3,1
	45	3,0			3,4
	60	3,0			3,6
LIN-F1	0	1,5	+	-	1,1
	15	1,4			1,1
	30	1,5			1,4
	45	1,6			1,5
	60	1,7			1,8
LIN-F2	0	1,9	NS	NS	1,9
	15	1,9			1,9
	30	1,5			2,2
	45	1,7			2,2
	60	1,9			2,1
LIN-F3	0	2,6	+	+	3,5
	15	3,1			3,8
	30	3,5			4,0
	45	3,9			4,2
	60	4,2			4,3

(+): Influencia positiva estadísticamente significativa ($p < 0.05$); (-): Influencia negativa estadísticamente significativa. NS: No existe influencia estadísticamente significativa.

Figura 9.- Distribución de las formas químicas de Zn en los suelos CHD y LIN tratados con 0, 15, 30, 45 y 60 Mg ha⁻¹ de biosólido.



F1: Fracción de Zn soluble en ácidos; F2: Fracción de Zn reducible; F3: Fracción de Zn oxidable. 0, 15, 30, 45 y 60 corresponden a las dosis de biosólido en Mg ha⁻¹. NI: no incubadas; I: incubadas.

Tabla 10.- Fraccionamiento de Zn, en los suelos CHD y LIN tratados con biosólido. Análisis multifactorial que considera los efectos: dosis de biosólidos y tiempo de incubación.

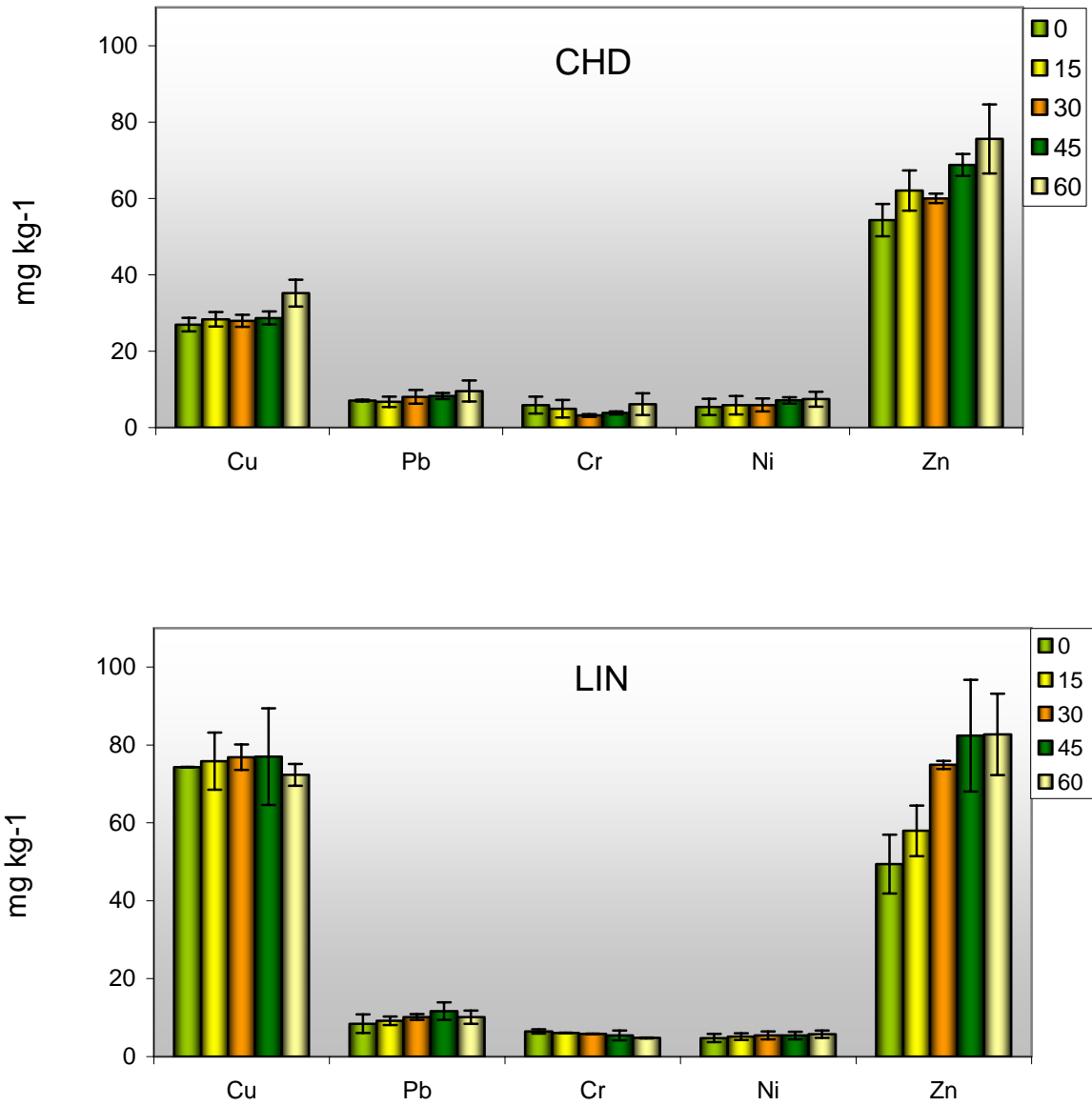
Fracción del suelo	Dosis de Biosólido Mgha ⁻¹	Zn mgkg ⁻¹ antes de incubar	Factores		Zn mgkg ⁻¹ después de incubar
			Dosis de Biosólido	Tiempo de incubación	
CHA-F1	0	13	+	NS	14
	15	20			18
	30	24			24
	45	25			28
	60	28			35
CHA-F2	0	26	+	+	28
	15	31			32
	30	35			37
	45	37			41
	60	37			46
CHA-F3	0	13	NS	+	11
	15	17			14
	30	16			13
	45	15			14
	60	16			14
LIN-F1	0	7,5	+	NS	6,7
	15	13			12
	30	19			19
	45	27			25
	60	30			28
LIN-F2	0	20	+	NS	21
	15	23			25
	30	25			29
	45	31			32
	60	33			32
LIN-F3	0	10	+	NS	9,5
	15	11			10
	30	11			12
	45	12			12
	60	15			12

(+): Influencia positiva estadísticamente significativa ($p < 0.05$); (-): Influencia negativa estadísticamente significativa. NS: No existe influencia estadísticamente significativa.

4.4.- Contenidos totales de Cu, Pb, Cr, Ni, Zn en plantas de Ballica cultivadas en los suelos CHD y LIN tratados con biosólidos a distintas dosis.

La Figura 10 muestra los contenidos de los metales traza considerados en las plantas de Ballica. Se encontró que Cu y Zn fueron los mayoritariamente absorbidos, lo que coincidiría con el mayor contenido de estos en los suelos. El Cu encontrado en las plantas cultivadas en el suelo LIN, fue aproximadamente el doble, que el encontrado en aquéllas cultivadas en el suelo CHD, lo cual podría deberse a que el suelo LIN tiene mayor contenido de este metal que el suelo CHD. Por otra parte, la incorporación del biosólido incrementó levemente la biodisponibilidad de este metal, encontrándose que el contenido de éste en las plantas cultivadas en el suelo CHD, aumentó levemente con la mayor dosis de biosólido aplicada. Las plantas en el suelo LIN tratado con las distintas dosis de biosólido también presentaron el mismo efecto, excepto en las que fueron cultivadas en el suelo tratado con la mayor dosis de biosólido, ya que se observó una disminución de la concentración de este metal, posiblemente podría ser debido a un mecanismo de defensa de la planta a nivel rizosférico, para disminuir la absorción de este elemento, ya que el biosólido también aporta Cu, y sumado a lo que contiene en el suelo, podría sobrepasar el límite de la tolerancia de Cu por la planta. En general para Pb y Cr se observó un comportamiento más irregular, tal como Cu en el suelo CHD, se observó un leve aumento del contenido de Pb con la dosis de biosólido. Por otra parte en el suelo LIN al ir aumentando la dosis de biosólido en el suelo, se encontró una leve disminución de Cr en la planta. En cambio, el contenido de Zn en plantas cultivadas en ambos suelos, incrementó claramente con la dosis de biosólido aplicado, siendo este incremento más importante en el suelo LIN, aunque este suelo tiene una menor concentración total de este metal, la incorporación de biosólido aumentó su disponibilidad, lo que coincidiría con el incremento de la fracción lábil (F1) que se produce con el aumento de la dosis del biosólido.

Figura 10.- Contenido total de Cu, Zn, Ni, Pb y Cr en las plantas de Ballica para LIN y CHD, tratados con biosólidos de 0, 15, 30, 45 y 60 Mg/ha.



4.5.- Relación entre las distintas fracciones de metal en los suelos y su contenido en las plantas de Ballica.

Para estimar la biodisponibilidad de los metales, se ajustó un modelo de Regresión Múltiple, entre los contenidos de estos metales en la planta como variable dependiente y como variables independientes las distintas fracciones químicas de estos metales en los suelos. Este modelo, en general no se ajustó para los metales encontrados en menor concentración en las plantas como Cr, Ni y Pb (Tabla 11). Para Cr sólo fue significativo, cuando las plantas fueron cultivadas en suelos tratados con las dos más altas dosis de biosólido, con coeficientes de determinación (R^2) de 0,95 y 0,71 para las dosis de biosólido de 45 y 60 Mg ha⁻¹ respectivamente, indicando que el contenido de Cr en las plantas cultivadas en suelos con 45 Mg/ha de biosólido podría deberse principalmente a la contribución de las dos primeras fracciones y cuando el suelo fue tratado con la dosis de biosólido más alta, el contenido de Cr en las plantas se atribuiría exclusivamente a la fracción de Cr asociada a óxidos. Para Pb en cambio, se encontró una correlación significativa sólo entre su contenido en las plantas cultivadas en suelos tratados con dosis de 30 y 45 Mg ha⁻¹, y la fracción soluble en ácido que comprende las formas de Pb soluble, intercambiable y asociada a carbonatos, con coeficientes de determinación de 0,96 y 0,84. Para Cu, el análisis de correlación se ajustó satisfactoriamente encontrándose valores de coeficientes de determinación (R^2) entre 0,93 y 0,99. Las variables independientes que contribuyeron positivamente a la absorción de Cu por la planta en los suelos control, fueron la fracción lábil (F1) y la fracción reducible, (F2). Para los suelos enmendados con biosólido con 15, 30 y 45 Mg/ha, las fracciones de Cu que contribuyeron a la absorción de Cu fueron la fracción de Cu soluble en ácido y la asociada con la materia orgánica, pero cuando se trataron los suelos con la dosis más alta de biosólido, sólo contribuyó la fracción de Cu soluble en ácido (F1).

Para Zn, el análisis de correlación fue significativo para todos los tratamientos, encontrándose valores de coeficientes de determinación (R^2) entre 0,81 y 0,99. Por otra parte se encontró que la concentración de Zn en la planta, en los suelos control sería atribuida a la contribución de la fracción lábil (F1) y de la fracción de Zn unida a la materia orgánica (F3). Para los suelos enmendados con 15 Mg/ha, la única fracción contribuyente fue la fracción oxidable (F3) es decir, a la fracción de Zn asociada con la materia orgánica, en cambio cuando los suelos fueron tratados con las dosis más alta de biosólido, en forma similar a lo observado con Cu, sólo la fracción lábil (F1) sería la responsable de la absorción de Zn (Tabla 11). Otras investigaciones donde también utilizaron Ballica, encontraron resultados similares, donde la mayor disponibilidad de Cu y Zn observada con la aplicación de biosólido, se debería a la movilidad de estos metales desde las fracciones menos disponibles, a las más disponibles (Torri, 2009).

Tabla 11.- Ecuación de regresión múltiple entre las distintas fracciones de los metales en los suelos tratados con diferentes dosis de biosólido y el contenido metales en plantas de ballica cultivadas en estos suelos.

Suelos - dosis biosólido	Ecuación	R ^{2¶}
Cobre		
S - 0	Cu-Ballica = 13,9706 + 3,1547 F1 + 0,3315F2 – 0,0092F3	0,99
S - 15	Cu-Ballica = 3,0614 + 15,3622 F1 – 1,9108F2 + 0,6360F3	0,99
S - 30	Cu-Ballica = –173,845 + 9,5509F1 – 2,4062F2 + 9,9857 F3	0,99
S - 45	Cu-Ballica = –4,8058 + 1 7,8254F1 – 2,2833F2 + 0,3627F3	0,93
S - 60	Cu-Ballica = 49,2979 + 6,4041 F1 – 0,0792F2 – 1,5393F3	0,99
Cromo		
S - 45	Cr-Ballica = 38,3 + 109,6 F1+ 94,0 F2 – 9,16 F3	0,95
S - 60	Cr-Ballica = 21,1 + 8,97 F2 – 1,65 F3	0,71
Plomo		
S - 30	Pb-Ballica = 2,99 + 4,31 F1	0,96
S - 45	Pb-Ballica = -2,36 + 4,21 F1	0,84
Cinc		
S - 0	Zn-Ballica = 65,9332 + 0,9206F1 – 1,5154F2 + 1,1555F3	0,82
S - 15	Zn-Ballica = 114,7570 – 0,6724F1 – 9,7404F2 + 1,9797F3	0,99
S - 30	Zn-Ballica = 114,7570 + 0,6724F1 – 1,5130F2 – 1,2660F3	0,94
S - 45	Zn-Ballica = 63,8175 + 3,1038F1 + 0,2421F2 – 5,4615F3	0,81
S - 60	Zn-Ballica = 11,2596 + 4,8449F1 – 0,8824F2 – 2,7809F3	0,96
¶ : coeficiente de determinación		

5.- CONCLUSIONES

- El orden en el contenido total de los metales en el biosólido fue: Zn > Cu > Cr > Ni > Pb. A excepción de Ni, dichas concentraciones se encontraron bajo las concentraciones máximas permitidas por la norma chilena.
- En general en el biosólido, los metales están predominantemente asociados a óxidos o a la materia orgánica, sin embargo se debe destacar que una parte importante de Zn se encontró en la forma más lábil.
- En los suelos, el contenido total de Cr fue similar. El suelo CHD mostró mayor concentración de Zn que LIN, en cambio este último presentó mayor concentración de los demás metales.
- En ambos suelos los metales se encontraron predominantemente en la forma residual. Menos del 20 % del contenido total de Cr, Ni y Pb, correspondió principalmente a las fracciones reducible y oxidable y la fracción soluble en ácido en el suelo CHD no fue detectada.
- Generalmente la aplicación del biosólido en ambos suelos, incrementó la disponibilidad de Cu y Zn.
- Al aplicar un análisis multifactorial, para evaluar los efectos de la dosis de biosólido y el proceso de incubación respecto de la distribución de los metales estudiados, se encontró que la dosis de biosólido influyó más que el proceso de incubación y las diferencias encontradas sólo fueron significativas para Cu, Ni y Zn.
- Los metales más biodisponibles fueron Cu y Zn. La biodisponibilidad de éstos dependió del suelo. Las concentraciones más altas de estos metales se encontraron en las plantas de Ballica cultivadas en el suelo LIN.
- A través del ajuste de un modelo de Regresión Múltiple, se encontró en general que la fracción soluble en ácido contribuyó positivamente a la absorción de Cu y Zn tanto en las plantas cultivadas en los suelos control como en los tratados con biosólido, en cambio para Cr y Pb la contribución de esta fracción fue significativa sólo cuando se trató el suelo con las dosis más altas de biosólido.

6.- BIBLIOGRAFÍA

- Ahumada, I., P. Escudero, M.A. Carrasco, G. Castillo, L. Ascar and E. Fuentes. 2004. Use of sequential extraction to assess the influence of sewage sludge amendment on metal mobility in Chilean soils. *J. Environ. Monit.* 6:327 – 334.
- Ahumada, I., O. Gudenschwager, M.A. Carrasco, G. Castillo, L. Ascar and P. Richter. 2009. Copper and Zinc bioavailabilities to ryegrass (*Lolium perenne* L.) and subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) grown in biosolid treated Chilean soils. *J. Environ. Monit.* 6:327 – 334.
- Anderson, P.R and T.H. Christensen. 1988. Distribution coefficients of Cd, Co, Ni and Zn in soil. *J. Soil Sci.* 39:15-22.
- Artiola J.F 1996. Waste Disposal. Chapter 10. In: pollution Science. Eds. Pepper, Gerba, and Brusseau. Academic Press, NY.
- Banerjee M.R., Burton D.L., Depoe S. 1997. Impact of sewage sludge application on soil biological characteristics. *Agric ecosyst Environ* 66: 241-249.
- Chaney, R.L. 1973. Crop and food Caín of toxic elements in sludges and effluents. *Cont. On Recycling Municipal Sludges and Effluents on Land-Grant Colleges.* 129-143.
- Chang, A.C., Page, A.L., and Bingham, F.T. 1982. Heavy Metal Adsorption by Winter Wheat following termination of Cropland Sludge Applications. *J. Environ. Qual.* 11:705-708.
- Chang, A.C., Warneke, J.E., Page, A.L., and Lund, J.L. 1984. Accumulation of Heavy Metals in Sewage Sludge-Treated Soils. *J. Environ. Qual.* 13:87-91.
- Comisión Nacional del Medio Ambiente, CONAMA. 2001. Proyecto Definitivo de Reglamento sobre Manejo de Lodos No Peligrosos. Chile.
- Emmerich, W.E., Lund, L.J., Page, A.L., and Chang, A.C. 1982. Solid Phase Forms of Heavy Metals in Sewage Sludge-Treated Soils. *J. Environ. Qual.* 11:178 – 181.

- Frezquez P.R., Francis R.E., and Dennis G.L. 1990. Sewage Sludge Effects On Soil and Plant Quality in a Degraded, Semiarid Grassland. *J. Environ. Qual.* 19:324-329.
- Hammer, D., Keller, C., 2002. Changes in the Rhizosphere of Metal-Accumulating Plants Evidenced by Chemical Extractants. *J. Environ Qual.* 31 1561-1569.
- Instituto Nacional de Normalización, INN. 2004. Norma Chilena NCh 2880 Of2004. Compost – Clasificación y requisitos. Santiago, Chile.
- Iyengar, S.S., D.C. Martens, and W.P Millar. 1981. Distribution and plant availability of soil Sci. Soc. Am J. 45:735-739.
- John, M.K., and Van Laerhoven, C.J. 1976. *J. Environ. Qual.* 5:246 – 251.
- Jones D.L., Hodge A., Kuzyakov Y. 2004. Plant and mycorrhizal regulation of rhizode-position, *New Phytol.* 163, 459-480.
- King, L. D., Rudgers, L. A. and Webber, L. R. 1974. Application of Municipal Refuse and Liquid Sewage Sludge to Agricultural Land: I. Field Study. *J. Environ. Qual.* 3:361 – 366.
- Klute, A. 1986. Water retention: Laboratory methods. pp 635-686. *In: Klute, A. (ed.). Methods of soil analysis. Part 1. Physical and mineralogical methods. Agronomy Series N° 9. ASA, SSSA. Madison, Wisconsin, USA. 1188 p*
- Mbila, M.O., Thompson, M.L., Mbagwu, J.S.C., Laird, D.A., 2001. Distribution and Movement of sludge-derived trace metals in a Nigerian Ultisol. *J. Environ. Qual.* 30:1667-1674.
- McLaren R.G. and Clucas L.A. 2001. Fractionation of Copper, Nickel, and Zinc in Metal-Spiked Sewage-sludge. *J. Environ Qual.* 30:1968-1975.
- Olivares C. Memoria para optar al título de Químico, Universidad de Chile. Extracción secuencial de cobre, Cromo, Níquel, Plomo y Zinc en suelos tratados con lodos estabilizados. 2004.

- Pascual I., Antolín M.C., García C., Polo A., Sanchez-Díaz M., 2004. Plant availability of heavy metals in a soil amended with a high dose of sewage sludge under drought conditions. *Biol Fertil Soils* (2004) 40:291-299.
- Rauret, G., López-Sánchez, J.F., Sahuquillo, A., Barahona, E., Lachica, M., Ure, A.M., Davidson, C.M., Gómez, A., Lück, D., Bacon, J., Yli-Halla, M., Muntau, H., and Quevauviller, Ph. 2000a. Application of a modified BCR sequential extraction procedure for the determination of extractable trace metal contents in a sewage sludge amended soil reference material (CRM 483), complemented by three-year stability study of acetic acid and EDTA extractable metal content. *J. Environ. Monit.* 2:228 – 233.
- Rauret, G., López-Sánchez, J.F., Sahuquillo, A., Barahona, E., Lachica, M., Ure, A.M., Davidson, C.M., Gómez, A., Lück, D., Bacon, J., Yli-Halla, M., Muntau, H., and Quevauviller, Ph. 2000b. Indicative values for extractable contents (mass fractions) of Cd, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn in a sewage sludge amended soil (CRM 483) following the modified BCR-sequential extraction (three-step) procedure (Addendum to EUR-report 17127 EN). European Commission. Directorate General XII – Science, Research and Development.
- Sadzawka R, A., M. A. Carrasco R, R. Grez Z, M. L. Mora G., H. Flores P. Y A. Reaman 2006. Métodos de Análisis recomendados para suelos de Chile. Revisión 2006. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Serie Actas INIA - N° 34, Santiago, Chile, 164p.
- Shiowatana J., Tantidanai N., Nookabkaew S., and Nacapricha D. A Novel Continuous-Flow Sequential Extraction Procedure For Metal Speciation in Soils. *J. Environ. Qual.* 30: 1195-1205.
- Torri S, Lavado R. 2009. Plant absorption of trace elements in sludge amended soil and correlation with soil chemical speciation. *J. Hazard Mater*
- Tsadilas, C.D., T. Matsi, N. Barbayiannis, and D. Dimoyiannis. 1995. Influence of sewage sludge application on soil properties and on the distribution and availability of heavy metal fractions. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 26 (15&16):2603-2619.

- Ure, A.M., Quevauviller, Ph., Muntau, H., and Griepink, B. 1993. Speciation of heavy metals in soils and sediments. An account of the improvement and harmonization of extraction techniques undertaken under the auspices of the BCR of the Commission of the European Communities. *International J. Environ. Analytical Chemistry* 51:135 – 151.

7.- ANEXOS

Tabla 7.1.- Extracción secuencial BCR, aplicada al biosólido BET2008. (M: metal).

Fracción	Concentración del metal en mg/kg				
	Cu	Pb	Cr	Ni	Zn
F1 M-CO ₃	28,5	12,0	6,61	29,8	412
F2 M-(MnOx/FeOx)	204	29,5	63,4	45,5	1019
F3 M-MO	256	26,7	318	12,8	51,8
M Total	650	61,30	381	88,1	1681

Tabla 7.2.- Extracción secuencial BCR de Cu, aplicada al suelo control CHD, enmendado con 15, 30, 45 y 60 Mg-ha⁻¹ de BET2008, incubados y sin incubar. (dS: Desviación Estandar; ND: No detectado; NI: sin incubar; I: incubadas; 0, 15, 30, 45 y 60 equivalen a suelo control, enmendado con 15, 30, 45 y 60 Mg-ha⁻¹, respectivamente.)

Dosis Biosólido [Mg-ha ⁻¹]		F1	F2	F3	Cu Residual [mg/kg] ± dS	Cu Total [mg/kg] ± dS	% Res *
		Cu-CO ₃ [mg/kg] ± dS	Cu-(MnOx/FeOx) [mg/kg] ± dS	Cu-MO [mg/kg] ± dS			
0	NI	2,42 ± 0,40	16,7 ± 0,4	20,1 ± 1,3	42,0 ± 6,3	81,3 ± 4,4	52
	I	2,84 ± 0,41	18,4 ± 0,4	15,1 ± 1,1	44,9 ± 2,7	81,3 ± 4,4	55
15	NI	3,12 ± 0,27	18,9 ± 0,6	21,5 ± 0,8	39,7 ± 2,2	83,3 ± 3,5	48
	I	3,10 ± 0,22	20,8 ± 0,6	17,4 ± 1,0	41,9 ± 2,1	83,3 ± 3,5	50
30	NI	2,98 ± 0,25	20,9 ± 0,3	24,7 ± 0,5	39,6 ± 4,0	88,2 ± 4,3	45
	I	3,36 ± 0,21	22,4 ± 0,3	18,6 ± 0,3	43,9 ± 4,1	88,2 ± 4,3	50
45	NI	3,89 ± 0,22	19,9 ± 1,6	26,4 ± 4,4	42,4 ± 4,8	92,6 ± 4,6	46
	I	3,62 ± 0,01	23,7 ± 0,1	20,5 ± 0,9	44,7 ± 5,2	92,6 ± 4,6	48
60	NI	4,07 ± 0,44	20,1 ± 0,4	25,0 ± 1,6	55,9 ± 17,4	93,6 ± 16	47
	I	4,05 ± 0,42	25,8 ± 1,6	22,4 ± 1,8	52,9 ± 18,3	93,6 ± 16	44

(*) Respecto del contenido total

Tabla 7.3.- Extracción secuencial BCR de Cu, aplicada al suelo control LIN, enmendado con 15, 30, 45 y 60 Mg-ha⁻¹ de BET2008, incubados y sin incubar. (dS: Desviación Estandar; nd: No detectado; NI: sin incubar; I: incubadas; 0, 15, 30, 45 y 60 equivalen a suelo control, enmendado con 15, 30, 45 y 60 Mg-ha⁻¹, respectivamente.)

Dosis Biosólido [Mg-ha ⁻¹]		F1	F2	F3	Cu Residual	Cu Total	% Res *
		Cu-CO ₃ [mg/kg] ± dS	Cu-(MnOx/FeOx) [mg/kg] ± dS	Cu-MO [mg/kg] ± dS	[mg/kg] ± dS	[mg/kg] ± dS	
0	NI	11,9 ± 0,3	69,5 ± 1,8	29,6 ± 1,1	31,5 ± 4,0	142 ± 3	22
	I	11,4 ± 0,2	71,1 ± 1,1	26,0 ± 0,7	34,0 ± 2,0	142 ± 3	24
15	NI	12,0 ± 0,5	69,4 ± 2,0	33,1 ± 2,1	28,8 ± 7,4	144 ± 4	20
	I	11,7 ± 0,0	73,9 ± 0,6	27,3 ± 0,7	30,5 ± 3,9	144 ± 4	21
30	NI	12,6 ± 0,5	70,3 ± 1,0	33,7 ± 0,5	33,6 ± 10,3	150 ± 11	22
	I	12,9 ± 0,2	80,3 ± 0,2	31,3 ± 1,8	25,6 ± 12	150 ± 11	17
45	NI	13,1 ± 0,1	72,3 ± 0,6	35,6 ± 0,2	34,7 ± 1,0	155 ± 1	22
	I	11,6 ± 0,4	78,2 ± 2,7	33,2 ± 1,1	33,5 ± 0,0	155 ± 1	21
60	NI	13,3 ± 0,4	75,4 ± 1,1	36,7 ± 2,1	31,3 ± 3,2	155 ± 5	19
	I	11,9 ± 0,2	76,6 ± 0,7	32,3 ± 0,9	33,5 ± 6,6	155 ± 5	22

(*) Respecto del contenido total

Tabla 7.4.- Extracción secuencial BCR de Pb, aplicada al suelo control CHD, enmendado con 15, 30, 45 y 60 Mg-ha⁻¹ de BET2008, incubados y sin incubar. (dS: Desviación Estandar; ND: No detectado; NI: sin incubar; I: incubadas; 0, 15, 30, 45 y 60 equivalen a suelo control, enmendado con 15, 30, 45 y 60 Mg-ha⁻¹, respectivamente.)

Dosis Biosólido [Mg-ha ⁻¹]		F1	F2	F3	Pb Residual	Pb Total	% Res *
		Pb-CO ₃ [mg/kg] ± dS	Pb -(MnOx/FeOx) [mg/kg] ± dS	Pb -MO [mg/kg] ± dS	[mg/kg] ± dS	[mg/kg] ± dS	
0	NI	1,53 ± 0,02	3,70 ± 0,30	2,35 ± 0,18	30,2 ± 2,4	37,8 ± 1,3	80
	I	1,37 ± 0,02	3,66 ± 0,33	2,38 ± 0,35	30,4 ± 1,2	37,8 ± 1,3	80
15	NI	1,65 ± 0,34	3,82 ± 0,19	2,36 ± 0,06	30,3 ± 0,2	38,1 ± 1,5	79
	I	1,67 ± 0,20	3,54 ± 0,05	2,24 ± 0,47	30,7 ± 0,7	38,1 ± 1,5	80
30	NI	1,61 ± 0,20	3,70 ± 0,38	2,26 ± 0,00	30,8 ± 0,6	38,3 ± 8,6	80
	I	1,62 ± 0,09	3,60 ± 0,26	2,24 ± 0,06	30,9 ± 0,3	38,3 ± 8,6	81
45	NI	1,71 ± 0,05	3,42 ± 0,48	2,56 ± 0,42	30,8 ± 0,9	38,5 ± 7,1	80
	I	1,85 ± 0,22	3,06 ± 0,34	2,24 ± 0,52	31,4 ± 1,1	38,5 ± 7,1	81
60	NI	2,04 ± 0,05	3,24 ± 0,11	2,57 ± 0,02	30,8 ± 0,2	38,7 ± 12,8	80
	I	1,78 ± 0,04	3,66 ± 0,18	2,37 ± 0,52	30,8 ± 0,6	38,7 ± 12,8	80

(*) Respecto del contenido total

Tabla 7.5.- Extracción secuencial BCR de Pb, aplicada al suelo control LIN, enmendado con 15, 30, 45 y 60 Mg·ha⁻¹ de BET2008, incubados y sin incubar. (dS: Desviación Estandar; nd: No detectado; NI: sin incubar; I: incubadas; 0, 15, 30, 45 y 60 equivalen a suelo control, enmendado con 15, 30, 45 y 60 Mg·ha⁻¹, respectivamente.)

Dosis Biosólido [Mg·ha ⁻¹]		F1	F2	F3	Pb Residual	Pb Total	% Res *
		Pb-CO ₃ [mg/kg] ± dS	Pb-(MnOx/FeOx) [mg/kg] ± dS	Pb-MO [mg/kg] ± dS	[mg/kg] ± dS	[mg/kg] ± dS	
0	NI	2,41 ± 0,15	2,07 ± 0,18	2,04 ± 0,04	39,5 ± 0,1	46,0 ± 8,0	86
	I	2,50 ± 0,19	2,17 ± 0,05	2,43 ± 0,16	38,9 ± 0,0	46,0 ± 8,0	85
15	NI	2,29 ± 0,01	1,98 ± 0,28	2,07 ± 0,28	39,8 ± 0,54	46,1 ± 1,3	86
	I	2,32 ± 0,06	2,38 ± 0,13	2,16 ± 0,34	39,3 ± 0,3	46,1 ± 1,3	85
30	NI	2,18 ± 0,13	1,75 ± 0,41	2,31 ± 0,19	40,0 ± 0,3	46,2 ± 0,8	86
	I	3,31 ± 0,12	2,24 ± 0,06	2,70 ± 0,51	38,0 ± 0,7	46,2 ± 0,8	82
45	NI	2,60 ± 0,16	2,29 ± 0,28	1,85 ± 0,19	39,6 ± 0,1	46,3 ± 0,1	85
	I	2,95 ± 0,22	1,51 ± 0,17	2,29 ± 0,24	39,6 ± 0,2	46,3 ± 0,1	85
60	NI	2,40 ± 0,11	2,19 ± 0,12	2,13 ± 0,16	39,7 ± 0,1	46,4 ± 0,3	86
	I	2,62 ± 0,08	1,70 ± 0,24	2,17 ± 0,14	40,0 ± 0,3	46,4 ± 0,3	86

(*) Respecto del contenido total

Tabla 7.6.- Extracción secuencial BCR de Cr, aplicada al suelo control CHD, enmendado con 15, 30, 45 y 60 Mg·ha⁻¹ de BET2008, incubados y sin incubar. (dS: Desviación Estandar; nd: No detectado; NI: sin incubar; I: incubadas; 0, 15, 30, 45 y 60 equivalen a suelo control, enmendado con 15, 30, 45 y 60 Mg·ha⁻¹, respectivamente.)

Dosis Biosólido [Mg·ha ⁻¹]		F1	F2	F3	Cr Residual	Cr Total	% Res *
		Cr-CO ₃ [mg/kg] ± dS	Cr-(MnOx/FeOx) [mg/kg] ± dS	Cr-MO [mg/kg] ± dS	[mg/kg] ± dS	[mg/kg] ± dS	
0	NI	nd	nd	1,59 ± 0,19	28,8 ± 2,2	29,8 ± 1,3	95
	I	nd	nd	2,24 ± 0,28	28,3 ± 2,6	29,8 ± 1,3	93
15	NI	nd	nd	4,00 ± 0,25	31,7 ± 5,2	35,7 ± 5,0	89
	I	Nd	0,74 ± 0,11	5,28 ± 0,80	29,7 ± 5,9	35,7 ± 5,0	83
30	NI	nd	0,48 ± 0,05	6,10 ± 0,17	35,2 ± 8,8	38,6 ± 4,0	83
	I	nd	0,93 ± 0,05	8,15 ± 0,31	33,9 ± 10,6	38,6 ± 4,0	76
45	NI	nd	0,55 ± 0,05	9,42 ± 0,54	35,6 ± 6,6	42,3 ± 3,4	76
	I	nd	1,03 ± 0,01	10,2 ± 0,0	34,8 ± 7,1	42,3 ± 3,4	73
60	NI	nd	0,70 ± 0,05	13,2 ± 1,4	33,0 ± 8,4	46,9 ± 9,7	70
	I	nd	1,15 ± 0,06	12,8 ± 0,9	33,0 ± 8,8	46,9 ± 9,7	70

(*) Respecto del contenido total

Tabla 7.7.- Extracción secuencial BCR de Cr, aplicada al suelo control LIN, enmendado con 15, 30, 45 y 60 Mg-ha⁻¹ de BET2008, incubados y sin incubar. (dS: Desviación Estandar; nd: No detectado; NI: sin incubar; I: incubadas; 0, 15, 30, 45 y 60 equivalen a suelo control, enmendado con 15, 30, 45 y 60 Mg-ha⁻¹, respectivamente.)

Dosis Biosólido [Mg-ha ⁻¹]		F1	F2	F3	Cr Residual	Cr Total	% Res *
		Cr-CO ₃ [mg/kg] ± dS	Cr-(MnOx/FeOx) [mg/kg] ± dS	Cr-MO [mg/kg] ± dS	[mg/kg] ± dS	[mg/kg] ± dS	
0	NI	0,44 ± 0,05	nd	1,02 ± 0,02	29,8 ± 1,5	30,7 ± 0,7	95
	I	0,61 ± 0,0	nd	1,65 ± 0,02	29,2 ± 2,0	30,7 ± 0,7	93
15	NI	0,33 ± 0,10	nd	3,86 ± 0,34	29,5 ± 3,9	32,3 ± 2,1	87
	I	0,60 ± 0,01	nd	4,75 ± 0,46	28,7 ± 4,4	32,3 ± 2,1	83
30	NI	0,44 ± 0,05	nd	6,69 ± 0,64	32,0 ± 3,9	36,8 ± 1,4	81
	I	0,72 ± 0,00	nd	7,59 ± 0,20	31,3 ± 4,3	36,8 ± 1,4	77
45	NI	0,44 ± 0,05	nd	8,79 ± 0,46	33,9 ± 4,0	40,1 ± 1,3	77
	I	0,64 ± 0,06	nd	10,6 ± 0,2	32,6 ± 5,2	40,1 ± 1,3	72
60	NI	0,53 ± 0,00	nd	9,83 ± 0,35	36,1 ± 7,0	41,4 ± 0,4	75
	I	0,70 ± 0,06	nd	11,8 ± 0,4	35,3 ± 8,1	41,4 ± 0,4	70

(*) Respecto del contenido total

Tabla 7.8.- Extracción secuencial BCR de Ni, aplicada al suelo control CHD, enmendado con 15, 30, 45 y 60 Mg-ha⁻¹ de BET2008, incubados y sin incubar. (dS: Desviación Estandar; ND: No detectado; NI: sin incubar; I: incubadas; 0, 15, 30, 45 y 60 equivalen a suelo control, enmendado con 15, 30, 45 y 60 Mg-ha⁻¹, respectivamente.)

Dosis Biosólido [Mg-ha ⁻¹]		F1	F2	F3	Ni Residual	Ni Total	% Res *
		Ni-CO ₃ [mg/kg] ± dS	Ni -(MnOx/FeOx) [mg/kg] ± dS	Ni -MO [mg/kg] ± dS	[mg/kg] ± dS	[mg/kg] ± dS	
0	NI	0,82 ± 0,02	2,07 ± 0,05	2,09 ± 0,09	35,4 ± 0,7	41,3 ± 1,6	88
	I	0,94 ± 0,21	1,85 ± 0,04	2,37 ± 0,09	35,3 ± 0,3	41,3 ± 1,6	88
15	NI	0,94 ± 0,09	2,35 ± 0,01	2,45 ± 0,06	39,2 ± 0,1	45,0 ± 3,6	87
	I	1,10 ± 0,06	2,21 ± 0,03	2,66 ± 0,30	39,0 ± 0,4	45,0 ± 3,6	87
30	NI	1,10 ± 0,04	2,64 ± 0,12	2,91 ± 0,02	43,8 ± 0,1	50,4 ± 3,5	87
	I	1,08 ± 0,28	2,47 ± 0,11	3,10 ± 0,19	43,9 ± 0,0	50,4 ± 3,5	87
45	NI	1,31 ± 0,05	2,68 ± 0,35	2,97 ± 0,10	48,2 ± 0,2	55,1 ± 8,1	87
	I	0,94 ± 0,09	2,66 ± 0,08	3,40 ± 0,05	48,1 ± 0,2	55,1 ± 8,1	87
60	NI	1,44 ± 0,04	2,65 ± 0,20	3,03 ± 0,02	52,5 ± 0,2	59,6 ± 7,9	88
	I	1,11 ± 0,04	2,78 ± 0,07	3,57 ± 0,15	52,2 ± 0,2	59,6 ± 7,9	87

(*) Respecto del contenido total

Tabla 7.9.- Extracción secuencial BCR de Ni, aplicada al suelo control LIN, enmendado con 15, 30, 45 y 60 Mg-ha⁻¹ de BET2008, incubados y sin incubar. (dS: Desviación Estandar; ND: No detectado; NI: sin incubar; I: incubadas; 0, 15, 30, 45 y 60 equivalen a suelo control, enmendado con 15, 30, 45 y 60 Mg-ha⁻¹, respectivamente.)

Dosis Biosólido [Mg-ha ⁻¹]		F1	F2	F3	Ni Residual	Ni Total	% Res *
		Ni-CO ₃ [mg/kg] ± dS	Ni -(MnOx/FeOx) [mg/kg] ± dS	Ni -MO [mg/kg] ± dS	[mg/kg] ± dS	[mg/kg] ± dS	
0	NI	1,54 ± 0,26	1,86 ± 0,28	2,59 ± 0,05	47,6 ± 2,7	49,2 ± 7,8	88
	I	1,08 ± 0,10	1,87 ± 0,05	3,48 ± 0,05	47,1 ± 2,7	49,2 ± 7,8	87
15	NI	1,42 ± 0,03	1,87 ± 0,12	3,10 ± 0,28	42,9 ± 0,2	49,3 ± 2,8	87
	I	1,12 ± 0,11	1,9 ± 0,2	3,81 ± 0,04	42,5 ± 0,0	49,3 ± 2,8	86
30	NI	1,54 ± 0,10	1,53 ± 0,01	3,53 ± 0,25	43,0 ± 0,1	49,6 ± 2,5	87
	I	1,44 ± 0,09	2,20 ± 0,12	3,97 ± 0,15	42,0 ± 0,2	49,6 ± 2,5	85
45	NI	1,57 ± 0,03	1,75 ± 0,12	3,88 ± 0,01	42,7 ± 0,1	49,8 ± 0,8	86
	I	1,54 ± 0,02	2,17 ± 0,03	4,15 ± 0,01	42,0 ± 0,02	49,8 ± 0,8	84
60	NI	1,66 ± 0,01	1,90 ± 0,10	4,21 ± 0,00	42,4 ± 0,1	50,1 ± 2,7	85
	I	1,86 ± 0,16	2,06 ± 0,04	4,29 ± 0,06	42,0 ± 0,2	50,1 ± 2,7	84

(*) Respecto del contenido total

Tabla 7.10.- Extracción secuencial BCR de Zn, aplicada al suelo control CHD, enmendado con 15, 30, 45 y 60 Mg-ha⁻¹ de BET2008, incubados y sin incubar. (dS: Desviación Estandar; ND: No detectado; NI: sin incubar; I: incubadas; 0, 15, 30, 45 y 60 equivalen a suelo control, enmendado con 15, 30, 45 y 60 Mg-ha⁻¹, respectivamente.)

Dosis Biosólido [Mg-ha ⁻¹]		F1	F2	F3	Zn Residual	Zn Total	% Res *
		Zn-CO ₃ [mg/kg] ± dS	Zn-(MnOx/FeOx) [mg/kg] ± dS	Zn-MO [mg/kg] ± dS	[mg/kg] ± dS	[mg/kg] ± dS	
0	NI	12,6 ± 0,4	26,4 ± 0,5	14,8 ± 2,7	81,4 ± 3,5	136 ± 1	60
	I	13,9 ± 0,2	27,7 ± 0,7	10,6 ± 0,4	84,1 ± 0,6	136 ± 1	62
15	NI	19,5 ± 2,6	31,1 ± 2,3	14,9 ± 1,9	71,8 ± 14,1	136 ± 13	52
	I	17,5 ± 0,7	32,4 ± 1,2	12,7 ± 1,4	73,6 ± 10,4	136 ± 13	54
30	NI	24,4 ± 0,6	34,7 ± 1,9	14,0 ± 2,2	74,4 ± 10,9	148 ± 14	51
	I	24,1 ± 0,7	36,6 ± 0,5	12,7 ± 0,4	75,0 ± 13,9	148 ± 14	50
45	NI	25,1 ± 1,9	41,1 ± 7,7	15,2 ± 0,5	93,7 ± 3,7	172 ± 3	53
	I	28,0 ± 0,6	40,9 ± 4,4	13,7 ± 0,4	88,5 ± 9,5	172 ± 3	52
60	NI	28,3 ± 0,8	36,6 ± 1,0	15,7 ± 0,2	135,9 ± 47,6	216 ± 20	63
	I	35,1 ± 3,4	46,1 ± 0,2	14,2 ± 0,3	119,7 ± 54,9	216 ± 20	56

(*) Respecto del contenido total

Tabla 7.11.- Extracción secuencial BCR de Zn, aplicada al suelo control LIN, enmendado con 15, 30, 45 y 60 Mg-ha⁻¹ de BET2008, incubados y sin incubar. (dS: Desviación Estandar; ND: No detectado; NI: sin incubar; I: incubadas; 0, 15, 30, 45 y 60 equivalen a suelo control, enmendado con 15, 30, 45 y 60 Mg-ha⁻¹, respectivamente.)

Dosis Biosólido [Mg-ha ⁻¹]		F1	F2	F3	Zn Residual	Zn Total	% Res *
		Zn-CO ₃ [mg/kg] ± dS	Zn-(MnOx/FeOx) [mg/kg] ± dS	Zn-MO [mg/kg] ± dS	[mg/kg] ± dS	[mg/kg] ± dS	
0	NI	7,53 ± 0,21	20,4 ± 1,4	10,2 ± 0,9	70,7 ± 10,4	109 ± 10	65
	I	6,70 ± 0,24	21,6 ± 0,4	9,50 ± 0,31	71,4 ± 10,8	109 ± 10	66
15	NI	13,3 ± 1,1	22,9 ± 1,5	11,0 ± 0,7	73,8 ± 8,4	120 ± 4	61
	I	12,4 ± 0,3	24,6 ± 0,2	10,3 ± 0,4	72,9 ± 4,6	120 ± 4	61
30	NI	17,7 ± 2,4	25,0 ± 1,6	11,3 ± 0,9	73,0 ± 12,2	127 ± 7	57
	I	19,4 ± 0,5	29,1 ± 0,7	11,7 ± 0,6	66,7 ± 7,2	127 ± 7	53
45	NI	25,4 ± 3,6	29,5 ± 3,6	12,3 ± 0,1	73,8 ± 1,3	138 ± 8	51
	I	25,2 ± 1,6	31,8 ± 0,8	11,5 ± 0,4	69,3 ± 4,1	138 ± 8	50
60	NI	29,5 ± 2,6	33,2 ± 1,4	15,2 ± 0,8	64,2 ± 12,0	142 ± 18	45
	I	27,9 ± 0,7	32,4 ± 0,6	12,2 ± 0,5	69,8 ± 18,6	142 ± 18	49

(*) Respecto del contenido total

Tabla.7.12.- Contenido Total de Cu, Pb, Cr, Ni, Zn en plantas de Ballica con mezclas de suelo-biosólidos enmendados 0, 15, 30, 45 y 60 Mg/ha de biosólido.

Metal	Suelo	Dosis biosólido [Mg-ha ⁻¹]				
		0	15	30	45	60
Cu	CHD [mg/kg] ± dS	27,0 ± 1,78	28,4 ± 1,9	28,0 ± 1,6	28,7 ± 1,7	35,2 ± 3,5
	LIN [mg/kg] ± dS	74,3 ± 0,1	75,9 ± 7,3	76,8 ± 3,3	77,0 ± 12,4	72,3 ± 2,8
Pb	CHD [mg/kg] ± dS	7,09 ± 0,23	6,79 ± 1,35	8,06 ± 1,81	8,27 ± 0,81	9,56 ± 2,72
	LIN [mg/kg] ± dS	8,43 ± 2,38	9,17 ± 1,09	10,2 ± 0,8	11,7 ± 2,23	10,1 ± 1,7
Cr	CHD [mg/kg] ± dS	5,87 ± 2,24	4,91 ± 2,31	3,15 ± 0,40	3,81 ± 0,38	6,15 ± 2,87
	LIN [mg/kg] ± dS	6,47 ± 0,56	6,06 ± 0,08	5,84 ± 0,04	5,44 ± 1,23	4,80 ± 0,10
Ni	CHD [mg/kg] ± dS	5,40 ± 2,15	5,86 ± 2,46	5,92 ± 1,73	7,14 ± 0,85	7,46 ± 1,94
	LIN [mg/kg] ± dS	4,78 ± 1,04	5,15 ± 0,84	5,48 ± 1,02	5,45 ± 1,00	5,75 ± 0,91
Zn	CHD [mg/kg] ± dS	54,3 ± 4,2	62,1 ± 5,3	60,0 ± 1,2	68,7 ± 2,9	75,6 ± 9,0
	LIN [mg/kg] ± dS	49,4 ± 7,6	58,0 ± 6,5	74,9 ± 1,0	82,4 ± 14,3	82,7 ± 10,4