



Universidad
Zaragoza



Facultad de Ciencias
Universidad Zaragoza

TRABAJO DE FIN DE GRADO

APLICACIÓN DE LA ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA EN LLAMA AL ESTUDIO DE LA DISPONIBILIDAD DE METALES EN SUELOS

SERGIO VERA RUBIO

Julio, 2022

Directora Dra. María Teresa Gómez Cotín

Departamento de Química Analítica



**Departamento de
Química Analítica**
Universidad Zaragoza



RESUMEN

Desde hace muchos años, la presencia de metales en suelos ha sido una problemática de vital importancia causada por el carácter tóxico, persistente y bioacumulable de estos en el medioambiente.

En este trabajo se estudia la influencia de distintos agentes lixiviantes sobre la liberación de metales en muestras de suelo. Se estudia el tiempo de contacto y el tipo de agente químico. Se desea comprobar su capacidad de liberación de metales desde la muestra sólida. Los metales analizados son hierro, de carácter ácido, y calcio, más fácilmente extraíble y que se encuentra en contenidos mayores.

El contenido de metales se determina mediante Espectroscopía de Absorción Atómica (FAAS)

ABSTRACTS

For many years, the presence of metals in soils has been a problem of vital importance due to their toxic, persistent and bioaccumulative nature in the environment.

In this work, the influence of different leaching agents on the release of metals in soil samples is studied. The contact time and the type of chemical agent are studied. It is desired to test their ability to release metals from the solid sample. The metals analyzed are iron, which is acidic, and calcium, which is more easily extractable and found in higher contents.

The metal content is determined by Atomic Absorption Spectroscopy (FAAS).

LISTADO DE ACRÓNIMOS

- AAS: Atomic Absorption Spectroscopy/Espectroscopia de Absorción Atómica.
- FAAS: Flame Atomic Absorption Spectroscopy/Espectroscopia de Absorción Atómica en Llama.
- GFAAS: Grafite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy/Espectroscopia de Absorción Atómica en Horno de Grafito.
- ICP-MS: Inductively coupled plasma mass spectrometry/Espectrometría de Masas con Plasma de Acoplamiento Inductivo
- ICP-OES: Inductively Coupled Plasma in Optical Emission Spectroscopy/Plasma Plasma de Acoplamiento Inductivo en espectroscopia de emisión óptica.
- LIBS: Laser Induced Breakdown Spectroscopy/Espectroscopia de plasma inducido por láser.
- SPE: Solid Phase Extraction/Extracción en fase sólida.
- SPME: Solid-Phase Microextraction/Microextracción en Fase Sólida.
- LLE: Liquid-Liquid Extraction/Extracción Líquido-Líquido.
- CPE: Point Cloud Extraction/Extracción en Punto de Nube.
- XRF: X-ray Fluorescence Spectroscopy/Espectroscopia de Fluorescencia de Rayos X.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN
 - 1.1 IMPORTANCIA DE LOS METALES EN EL MEDIOAMBIENTE
 - 1.2 BIODISPONIBILIDAD DE METALES EN SUELOS
 - 1.3 LIBERACIÓN/EXTRACCIÓN DE METALES EN SUELOS
 - 1.4 TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA LA DETERMINACIÓN DE METALES EN SUELOS
2. OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO
3. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL
 - 3.1 INSTRUMENTACIÓN, MATERIAL Y REACTIVOS
 - 3.1.1 Instrumentación
 - 3.1.2 Material
 - 3.1.3 Reactivos
 - 3.2 PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES
 - 3.2.1 Caracterización preliminar de la muestra de suelo: pH, conductividad y humedad
 - 3.2.2 Determinación del contenido total de Fe y Ca en la muestra
 - 3.2.3 Estudio de la liberación de metales en distintos medios
4. RESULTADOS
 - 4.1 Estudios preliminares sobre la determinación de Fe y Ca
 - 4.1.1 Determinación de hierro en dos instrumentos diferentes por absorción atómica
 - 4.1.2 Determinación de calcio mediante absorción y emisión atómica
 - 4.1.3 Estudio del peso de muestra para la lixiviación del metal
 - 4.2 Caracterización de la muestra. Estudio de parámetros físico-químicos
 - 4.3 Determinación del contenido total de Fe y Ca en suelos
 - 4.4 Determinación de la cantidad de Fe liberada en distintos medios
 - 4.4.1 Determinación de la cantidad de Fe liberada en agua ultrapura
 - 4.4.2 Determinación de la cantidad de Fe liberada en ácido nítrico diluido
 - 4.4.3 Determinación de la cantidad de Fe liberada en ácido acético diluido
 - 4.4.4 Determinación de la cantidad de Fe liberada en EDTA 1%
 - 4.5 Determinación de la cantidad de Ca liberada en distintos medios
 - 4.5.1 Determinación de la cantidad de Ca liberada en agua ultrapura
 - 4.5.2 Determinación de la cantidad de Ca liberada en EDTA 1%
 - 4.5.3 Determinación de la cantidad de Ca liberada en NH_4NO_3 1%
5. CONCLUSIONES
6. BIBLIOGRAFÍA
7. ANEXO

1. INTRODUCCIÓN

1.1 IMPORTANCIA DE LOS METALES EN EL MEDIOAMBIENTE

La presencia de los metales en los suelos afecta de distintas formas al medioambiente. Pueden tener efectos beneficiosos como nutrientes en ocasiones, pero a concentraciones más altas, pueden ser contaminantes. La contaminación de los suelos causada por metales es una problemática cada día más preocupante, sobre todo en los países más industrializados, ya que muchos de los contaminantes son elementos químicos de alta densidad que pueden llegar al medioambiente en grandes concentraciones, donde pueden manifestarse con una elevada toxicidad, gran persistencia y bioacumulación.(1)

Esto puede provocar no solo una contaminación de los suelos agrícolas, sino que también puede afectar a la calidad y seguridad de los alimentos, así como acumularse en las aguas de los ríos e introducirse en la cadena trófica de los seres vivos. (2)

Hierro y calcio son dos de los metales más comunes presentes en la corteza terrestre. La determinación de estos metales tiene una gran importancia a nivel geológico, biológico y ambiental debido a su presencia en aguas, rocas, sedimentos y suelos. (3)

Estos elementos son utilizados en su mayoría en aplicaciones industriales, urbanas y agrícolas, aunque también pueden provenir de procesos naturales como la meteorización de las rocas o la erupción de volcanes. (4)

Una vez emitidos pueden permanecer en el medio durante muchos años, donde pueden migrar fácilmente al agua, plantas y suelos debido a su lenta degradabilidad y alta movilidad. Por ello es importante comprender la interacción de estos elementos con los distintos componentes del suelo en el que se encuentran, principalmente para obtener información sobre su biodisponibilidad en el entorno. (5)

La capacidad de los suelos para fijar metales es muy importante, ya que puede afectar directamente a diversas cuestiones ambientales como la predicción de riesgos debidos a su liberación, la recuperación de suelos contaminados y la gestión de los residuos. La toxicidad de ciertos metales no depende solo de su concentración, sino también de su movilidad y reactividad con otros componentes del propio suelo. (1)

1.2 BIODISPONIBILIDAD DE METALES EN SUELOS

La biodisponibilidad se define como la medida del grado de accesibilidad de los metales para ser incorporados a la biomasa.

La determinación de contenidos totales de metales en suelos no es un trabajo suficiente para evaluar la biodisponibilidad y movilidad. Por ello, la disponibilidad de los metales se evalúa en base a la forma o especie química en la que se encuentran en el medio, es decir, su especiación. La especiación va a influir notablemente en su distribución en el suelo, condicionando su comportamiento como contaminante. (6)

El destino de los metales en los suelos se puede ver influenciado por diversos parámetros físico-químicos del propio suelo. (7)

Los iones son retenidos de diferentes formas, estas formas difieren desde iones libres en el suelo, hasta formas orgánicas y minerales.

El pH es uno de los principales factores que afectan directamente a la disponibilidad de metales en suelos. La gran parte de los metales están más disponibles a pHs más ácidos, a excepción de As, Mo, Cr y Se, que se encuentran más disponibles a pHs alcalinos. (8)(9)

La capacidad de intercambio catiónico (CIC) es otro de los factores más importantes. La CIC es la facilidad con la que los cationes que quedan retenidos en el suelo son reemplazados por otros, es decir, son intercambiables. Varía en función de la materia orgánica presente en el suelo, de si el tipo de suelo es arcilloso y de la presencia de óxidos de hierro y manganeso (9). Cuanto mayor sea la capacidad de intercambio catiónico, mayor será la capacidad del suelo para fijar metales. (5)(7)

Los suelos difieren en su capacidad de retener cationes, ya que esta depende del pH, la cantidad y el tipo de minerales de arcilla presentes en el suelo, el contenido de materia orgánica en el suelo y las características propias de cada ion metálico. (10)(6)(8)

El contenido en materia orgánica, por otra parte, afecta a la capacidad de formar complejos o quelatos en el suelo, influyendo en su disponibilidad metálica. Otro factor que afecta a la disponibilidad de los metales también se ve influida por las condiciones de oxidación-reducción del suelo, ya que hay metales que se ven favorecidos en condiciones oxidantes y otros en condiciones reductoras. (11)(9)

1.3 LIBERACIÓN/EXTRACCIÓN DE METALES EN SUELOS

Las muestras de suelos normalmente necesitan un pretratamiento de la muestra con una purificación y una extracción eficiente de los analitos de interés previo a su análisis específico (9). Este procesamiento previo suele ser un trabajo difícil en el que la prioridad es mantener al analito que deseamos determinar hasta su análisis final. (7)

Tradicionalmente uno de los métodos más empleados para el estudio de metales en suelos son las extracciones secuenciales. Aunque no conducen a una especiación química completa, pueden ser de más interés en términos del comportamiento de un elemento como contaminante, ya que se pueden relacionar los contenidos (que no siempre son totales) asociados a distintos componentes del suelo con su movilidad y biodisponibilidad. (12)

El objetivo de la extracción secuencial es tratar sucesivamente el suelo con reactivos de grado creciente de extractabilidad. Las fracciones que se obtienen aisladamente corresponden a formas de los metales progresivamente menos disponibles. (12)

Se han propuesto tratamientos de muestra con técnicas como la extracción líquido-líquido (LLE), extracción en fase sólida (SPE), nube extracción puntual (CPE), coprecipitación, microextracción en fase sólida, dispersiva, aunque presentan ciertas desventajas en relación a la volatilidad de los compuestos. (13)

Además se usan técnicas innovadoras basadas en la utilización de disolventes eutécticos como microextracción líquido-líquido (DLLME) y microextracción líquido-líquido dispersivo basados en la solidificación de una gota orgánica flotante (DLLME-SFO). Se han utilizado para extraer metales pesados de diferentes matrices. (13)

Otros estudios han plasmado resultados satisfactorios mediante extracción asistida por ultrasonidos como pretratamiento de muestra. En estos métodos se utiliza la mezcla de pequeños volúmenes HCl, HNO₃ y HF como mezcla de disolventes de extracción para garantizar una extracción eficaz del analito. (14)

Una de las formas más utilizadas para la extracción de iones metálicos es el uso de ácidos, uno de los más empleados es el agua regia, realmente se trata de procesos de digestión que pasan al metal a disolución. También se destacan tecnologías de separación física, como la gravimétrica y separadores magnéticos cuya finalidad está muy enfocada a la concentración y posterior eliminación de metales tóxicos en suelos con grandes fracciones de partículas. Las técnicas de extracción química suelen ser más utilizadas para la eliminación de metales tóxicos en suelos con fracciones más finas de partículas. (11)(15)

Las técnicas de solubilización de metales incluyen la lixiviación con diferentes ácidos inorgánicos como H₃PO₃, H₂SO₄ y HNO₃. (16)

Estos métodos tratan principalmente de exponer el suelo a soluciones ácidas durante un periodo de tiempo y de esta forma solubilizarlos y eliminar los metales tóxicos. (16)

1.4 TÉCNICAS EXPERIMENTALES PARA LA DETERMINACIÓN DE METALES EN SUELOS

La calidad de los suelos, el control de las aguas y el medioambiente en general son cuestiones importantes que pueden afectar a los seres vivos. Por ello, es muy importante desde el punto de vista analítico, desarrollar un método rápido, sensible y selectivo para la determinación y monitorización de metales que permita garantizar un control de calidad y seguridad para las personas. (5)(13)

A continuación se hace una breve exposición de algunas técnicas analíticas de detección y separación de metales.

En lo referente a técnicas electroanalíticas, se han visto estudios en los que mediante aplicación de la voltametría se ha realizado la determinación de ciertos metales pesados como plomo y cobre en aguas. (17)

Mediante electroforesis capilar también se puede llevar a cabo la determinación de iones metálicos en agua, suelos y sedimentos, siendo además un método de separación.

(12) ICP-MS e ICP-OES se caracterizan por una alta precisión, sensibilidad y rapidez, aunque como inconveniente se tiene que la mayoría de las muestras analizadas por estas técnicas son muestras líquidas. (18) Esto conlleva un pretratamiento de las muestras sólidas para la digestión de la matriz. (16)

Para muestras sólidas se puede utilizar directamente LIBS, la cual es una técnica atractiva debido a su alta sensibilidad y precisión, además de que la preparación de muestra es mínima. Es una técnica espectrométrica de emisión atómica que utiliza la generación de plasma a través de pulsos de alta potencia. (15)

La espectrometría de absorción atómica de llama (FAAS) y la espectrometría de fluorescencia de rayos X (XRF) son otras técnicas utilizadas para la evaluación de suelos contaminados con metales. Ambas técnicas son idóneas para la cuantificación de metales en suelos contaminados. (19)

Cuando los metales se determinan mediante espectrometría por absorción atómica, es porque se trata de una técnica sensible y selectiva debido a que las líneas de absorción atómica son estrechas y que la energía de transición electrónica es característica para cada elemento. La absorción atómica es una técnica clásica para el análisis elemental; existen dos formas de atomizar la muestra (obtener átomos que absorban luz). Estas formas de atomizar son una llama (de aire/acetileno ó nitroso/acetileno habitualmente) y una atomización electrotérmica en cámara de grafito. (20)

FAAS tiene una sensibilidad que se encuentra en el rango de los mg/L, tiene fácil aplicación y bajo coste, además de que puede determinar una gran variedad de elementos, lo que la convierte en una técnica adecuada para determinar metales en suelos (21). Es la técnica que se utiliza en este trabajo.

2. OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO.

El objetivo fundamental de este trabajo es realizar diversos estudios para conocer la cantidad de hierro y calcio liberados en diferentes medios en una muestra de suelo (muestra de tierra comercial). De esta manera, se busca conocer la biodisponibilidad y extractabilidad de estos metales. Los objetivos detallados son los siguientes:

- Objetivo previo 1: comparativa de dos equipos, determinación de Fe
- Objetivo previo 2 : comparación de absorción/emisión atómica para Ca
- Caracterización de propiedades físico-químicas de la muestra de suelo: humedad, pH y conductividad
- Determinación del contenido total de hierro y calcio
- Influencia de la cantidad de muestra tomada para realizar los estudios de lixiviación
- Estudio de la cantidad de hierro y calcio liberados en diferentes tiempos de lixiviación.
- Estudio de la cantidad de hierro y calcio liberados en diferentes agentes extractantes.

Otros objetivos de carácter transversal son los siguientes:

- Aprender a buscar información y manejar bibliografía.

- Interpretar y evaluar la calidad de los resultados tanto cuantitativos como cualitativos, incluyendo el valor asociado en la incertidumbre.
- Conocer y manejar de forma habitual la instrumentación de las técnicas utilizadas (FAAS).
- Aplicar los conocimientos teóricos adquiridos a lo largo del Grado de Química al trabajo realizado experimentalmente en el laboratorio y reflejar todo ello en el Trabajo de Fin de Grado.
- Aprender a redactar informes y trabajos de laboratorio.

3. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

3.1 INSTRUMENTACIÓN, MATERIAL Y REACTIVOS

Todo el material usado para el tratamiento y preparación de muestras se ha introducido en un recipiente con HNO₃ al 10% durante 24 horas. Transcurrido este tiempo, se lava con agua y se deja secar. De este modo se asegura que el material esté en las condiciones óptimas de trabajo.

3.1.1 Instrumentación

- Balanza analítica AND GH-200.
- pH-metro GLP 21 CRISON.
- Conductímetro HANNA HI 9811-5.
- Espectrofotómetro de Absorción Atómica en Llama, Perkin Elmer AAnalyst 200.
- Espectrofotómetro de Absorción Atómica en Llama, Perkin Elmer Z380.
- Lámpara de hierro de cátodo hueco, Perkin Elmer.
- Lámpara de calcio de cátodo hueco, Perkin Elmer.

3.1.2 Material

- Agitador y mezclador Heidolph Rotamax 120.
- Agitador y mezclador Heidolph Reax 2.
- Centrifugadora Thermo Scientific Heraeus Multifuge X1R.
- Estufa Memmert.
- Vasos de teflón.
- Vasos de precipitados.
- Vidrios de reloj.
- Gradillas.
- Cuentagotas.
- Pipetas.
- Micropipeta 200-1000µL Kartell.
- Micropipeta 10-100 µL Kartell.
- Tubos Eppendorf 50 mL.

- Puntas de micropipeta 200-1000µL, 10-100 µL.

3.1.3 Reactivos

- Agua Ultrapura Millipore, H₂O MiliQ.
- Ácido nítrico, HNO₃ 65%,EPR Labkem.
- Ácido acético, CH₃COOH 99-100%, GRP RECTAPUR.
- Ácido etilendiaminotetraacético, EDTA 90%, EPR Labkem.
- Nitrato amónico, NH₄NO₃ 35%, EPR Labkem.
- Muestra: suelo comercial denominado Green Color.

3.2 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

El objetivo es realizar varios estudios sobre la muestra Green Color de forma que se compruebe cuánto hierro o calcio se libera por la acción de diferentes agentes extractantes. Ya se ha dicho anteriormente que es importante la acción lixivante de distintos reactivos sobre los suelos, incidiendo sobre su liberación al medioambiente y su biodisponibilidad. En el laboratorio se va a modelizar con un suelo comercial la influencia del tipo de agente y el tiempo de contacto entre el suelo y el reactivo.

Para todas las determinaciones se han preparado rectas de calibrado con patrones de 1, 5, 10,15 y 20 mg/L para el hierro y de 1, 2.5 , 5, 7.5 y 10 mg/L para el calcio, siempre en HNO₃ al 1%. Todas las determinaciones han sido medidas por Espectroscopía de Absorción Atómica en Llama (FAAS), técnica cuya sensibilidad (unos pocos mg/L) es la adecuada para este tipo de matriz y analitos. Los parámetros instrumentales son los siguientes:

Tipo de lámpara	Lámpara de hierro de cátodo hueco Lámpara de calcio de cátodo hueco
Tipo de nebulizador	Nebulizador neumático
Tipo de llama	Aire - Acetileno
Longitud de onda	247,8 nm (Fe) 422,5 nm (Ca)
Intensidad de la fuente de excitación	10 mA en ambos casos
Anchura de rendija	0,7nm (PerkinElmer 2380) 2,7nm (PerkinElmer Analytic200)
Caudal Aire/Acetileno	10/2.5 L/min
Tiempo de integración	1 s
Tiempo de retraso	2 s
Número de réplicas para muestra	3
Número de réplicas para blanco	10
Ganancia	73

3.2.1 Caracterización de la muestra inicial de suelo: pH, conductividad y humedad

- **Estudio del pH y conductividad de la muestra:** Se pesa 1 g de la muestra en un tubo falcón, se añade agua ultrapura hasta 50mL (por pesada) y se agita durante 1 hora. Una vez pasado este tiempo se trasvasa a un vaso de precipitados y se mide el pH y la conductividad resultante. Se realizan tres réplicas. (Figura 1).

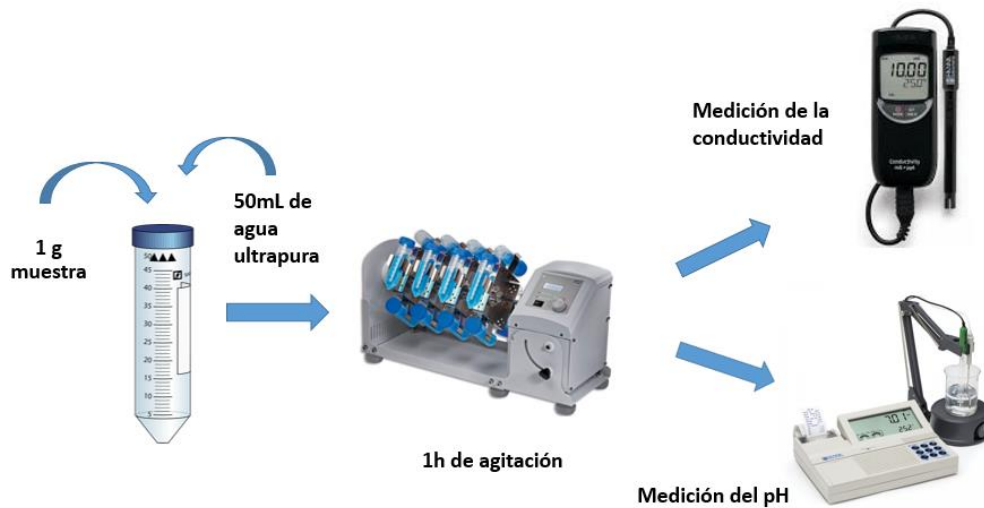


Figura 1- Procedimiento experimental del estudio del pH y la conductividad

Esta misma preparación de muestra se llevó a cabo para comprobar el pH resultante al añadir los distintos agentes lixiviantes utilizados.

-**Estudio de la humedad:** Se pesa 1 g de la muestra en un vidrio de reloj. Se introduce en la estufa durante 1 hora a 105°C. Se vuelve a pesar y se introduce de nuevo durante 1 hora. De esta forma se obtiene la pesada constante. (Figura 3).

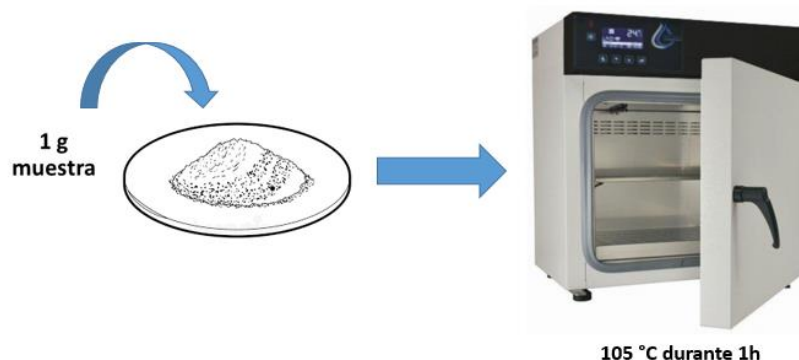


Figura 2- Procedimiento experimental del estudio de la humedad

3.2.2 Determinación del contenido total de Fe y Ca en la muestra

La matriz estudiada, el suelo, es una matriz difícil. Llevar a cabo su disolución es una tarea compleja. En este trabajo se ha realizado una digestión ácida en sistema abierto, en vasos de teflón y baño de arena. Hay gran cantidad de bibliografía al respecto, pero en el laboratorio únicamente se ha probado el ataque con un ácido oxidante; ácido nítrico y agua oxigenada, y un segundo ataque con ácido sulfúrico. En ambos casos, tras varias horas de calentamiento se ha obtenido un residuo insoluble en ácido y en el sobrenadante se ha determinado el contenido total del metal que pudiera haber.

Para ello se pesa 1g de muestra de suelos en un vaso de teflón y se añaden 5 mL de H₂SO₄. Se realizan dos réplicas. Los tubos de teflón se introducen en el baño de arena hasta sequedad. Se repite la adición del ácido dos veces más hasta sequedad.

Se pesa 1g en otro tubo de teflón y se añaden 5 mL de HNO₃ + 1 mL de H₂O₂. Se realizan dos réplicas. Los tubos de teflón se introducen en el baño de arena hasta sequedad. Se repite la adición del ácido dos veces más hasta sequedad.

Una vez obtenidos los residuos, estos se trasvasan a tubos de 50mL con HNO₃ al 1% hasta un volumen de 50mL (mediante pesada). Se llevan a centrifugación. Se toma 1mL de sobrenadante y se lleva a un volumen de 50mL de HNO₃ 1%. Por último se mide por FAAS.

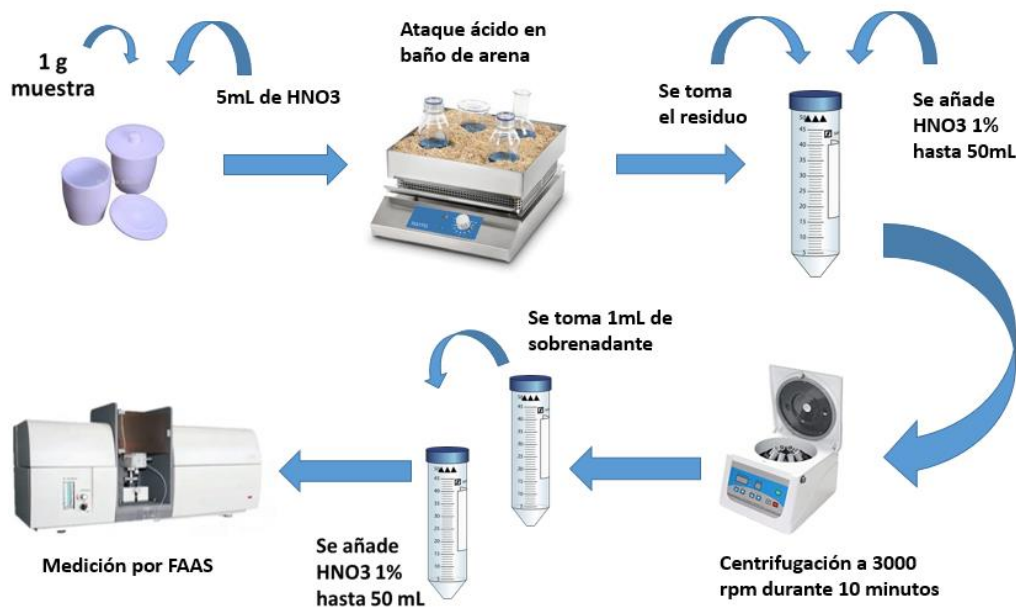


Figura 3- Procedimiento experimental del estudio del contenido total de Fe y Ca en la muestra.

3.2.3 Estudio de la liberación de metales en distintos medios

Se pesa 1g de muestra de Fe (ó 0,01 gramos para Ca) y se añaden distintos reactivos hasta un volumen final de 50 mL. Se lleva a agitación durante distintos tiempos (10min,

30min, 60min, 120min y 240min). Seguidamente se centrifugan a 4000 rpm durante 10 min. En el sobrenadante se cuantificará la cantidad de Fe liberado, mientras que para el caso de calcio se toma 1 mL de sobrenadante y se lleva a 50 ml con HNO₃ al 1%.

Se realizan siempre tres réplicas. No se mide prepara ni mide blanco de método porque en otros estudios realizados por otros investigadores se había comprobado que no daban señal relevante y que la concentración de analito era menor que el límite de cuantificación.

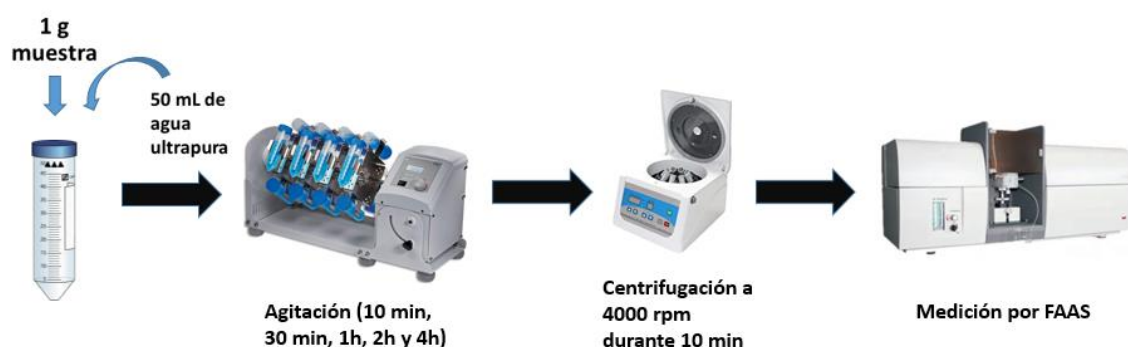


Figura 4- Procedimiento experimental del estudio de la cantidad de metal liberado en agua ultrapura.

4. RESULTADOS.

En esta parte del trabajo se muestran los resultados obtenidos en los distintos experimentos llevados a cabo. Fundamentalmente se basan en comprobar cómo afecta a la liberación de los metales la actuación de distintos agentes lixiviantes y el tiempo de contacto entre la muestra sólida y las distintas disoluciones. Para ello es necesario conocer cuál es el contenido de metales inicial en la muestra, uno de los primeros experimentos que se realizaron.

Antes de iniciar el estudio de la muestra, se llevaron a cabo dos experimentos con patrones de metales: en el caso de hierro para comprobar cómo era la recta de calibrado en dos instrumentos distintos, y, en el caso de calcio, comprobar las señales cuando se trabaja en absorción o en emisión atómica.

Posteriormente ya se trabajó de forma sistemática con la muestra objeto de estudio.

En los siguientes apartados se van a detallar los resultados obtenidos: comparativa de distintos instrumentos, caracterización físico-química de la muestra analizada, digestión de la muestra y los experimentos de liberación de metal.

4.1. Estudios preliminares sobre la determinación Fe y Ca

4.1.1. Determinación de Fe en dos instrumentos diferentes por Absorción atómica

Al comenzar el trabajo se pensó en la idea de usar dos equipos distintos (ya que uno de ellos era nuevo) y comprobar cómo era la determinación de los metales usando dos equipos distintos, de diferentes casas comerciales. En concreto el Espectrofotómetro de absorción atómica en llama Perkin Elmer 2380 y AnalyticJena NOVAA400. Se optó por hacer el estudio sólo con hierro.

Para ello se preparó una calibración externa mediante patrones conocidos de Hierro, se obtuvo la señal AA y se procedió a evaluar la recta obtenida. En concreto se comparan las pendientes de las rectas, relacionadas con la sensibilidad obtenida. Mayor pendiente implica mayor sensibilidad y obtención de señales mayores, algo que se persigue en las técnicas analíticas instrumentales. En la tabla 1 y gráfico 1 se muestran los resultados.

La tabla 1 resume la aplicación de herramientas estadísticas. Se realizó un estudio estadístico mediante comparación de las pendientes obtenidas. Se pretende saber si hay diferencias significativas entre ambas pendientes aplicando un Anova de dos colas y calculando la probabilidad de que la pregunta realizada (los valores de pendientes son o no diferentes) se deba a cuestiones puramente aleatorias o no. Como la probabilidad es inferior al 5%, se asume que las pendientes son significativamente distintas (al nivel del 95%). Esta conclusión era inmediata aunque no se hubiera hecho test Anova, como se aprecia en la gráfica 1. La sensibilidad es mayor en el equipo 1 (PE 2380)

	PE 2380	AAAnova 400
Magnitud	0,0265	0,0189
Incertidumbre	0,000936	0,000478
Grados de libertad	5	5
Parámetro z o t	7,23	
probabilidad de que la diferencia sea aleatoria:		2 colas
distribución t asumiendo varianzas comparables		0,00%
distribución t (varianzas no comparables)		0,08%

Tabla 1-Comparación de pendientes (sensibilidades) en dos espectrofotómetros. Anova de dos colas

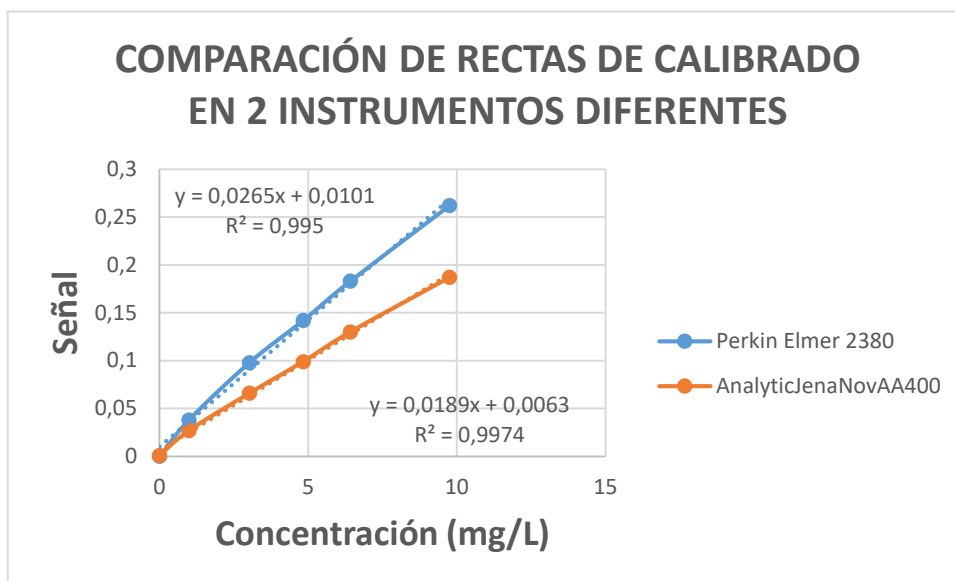


Gráfico 1-Rectas de calibrado de Fe en dos instrumentos distintos

Se eligió el equipo Perkin Elmer 2380 porque se alcanza mayor sensibilidad y resulta más fácil su manejo.

4.1.2. Determinación de Ca mediante absorción y emisión atómica

Por las características del átomo de calcio, el tipo de interacción de este elemento con la luz puede ser absorción o emisión (alcalinotérreo, excitación del átomo más fácil a la temperatura de la llama que Fe). Por ello se realizó un estudio preliminar con patrones de calcio para comparar resultados midiendo un tipo de interacción u otro.

Se preparó una recta con patrones de Calcio y se midió la señal de absorción y de emisión atómica. Se planteó el mismo estudio que en el apartado anterior, para comprobar si las pendientes eran distintas o no, aunque ya se veía, sin hacer estudio estadístico que la emisión era más sensible. A continuación aparece la tabla del test Anova y la gráfica de la calibración correspondiente.

	Absorción	Emisión
Magnitud	0,0254	0,0374
Incertidumbre	0,000914	0,00088
Grados de libertad	5	5
Parámetro z o t	9,46	
probabilidad de que la diferencia sea aleatoria:		2 colas
distribución t asumiendo varianzas comparables		0,00%
distribución t (varianzas no comparables)		0,02%

Tabla 2-Comparación de pendientes (sensibilidades) para Ca. Medida de señal de absorción o emisión

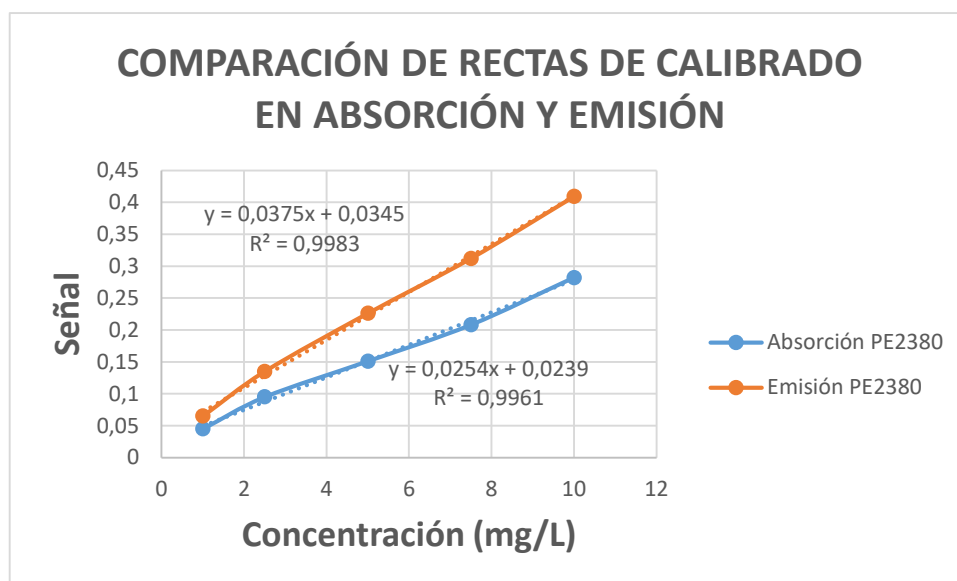


Gráfico 2-Rectas de calibrado de Ca en para emisión y absorción

Se concluyó que las pendientes son significativamente diferentes como ya se observaba.

No obstante, el planteamiento inicial del trabajo era medir absorción atómica y los estudios para calcio se han realizado con esta técnica.

4.1.3. Estudio del peso de muestra para realizar la lixiviación de metal

El interés de los experimentos que se indican seguidamente es comprobar qué peso de muestra es más adecuado para realizar la lixiviación, con qué peso de muestra se libera más cantidad de metal. Se realizó el estudio en medio acuoso y dejando en contacto el suelo con agua durante una hora.

a) HIERRO

Para Fe se estudiaron tres pesos de muestra, 0,5, 1 y 2 gramos elegidos según la bibliografía revisada. Se hicieron dos réplicas de cada valor (número de réplicas que se hacen en todos los estudios)

Cantidad (g)	C obtenida (mg/L)	mg Fe/g muestra	% Fe liberado
0,5 g	1,59±0,29	0,160±0,004	5,50±0,5
1g	5,07±0,26	0,249±0,004	8,54±0,43
2g	5,55±0,26	0,134±0,004	4,61±0,22

Tabla 3 -Porcentajes de liberación de hierro a distintas cantidades de muestra

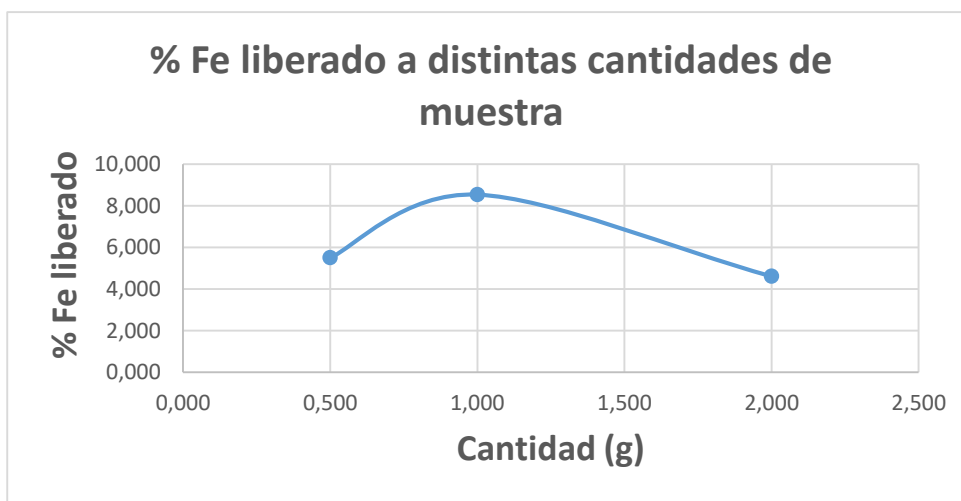


Gráfico 3- Porcentaje de liberación de hierro a distintas cantidades de muestra

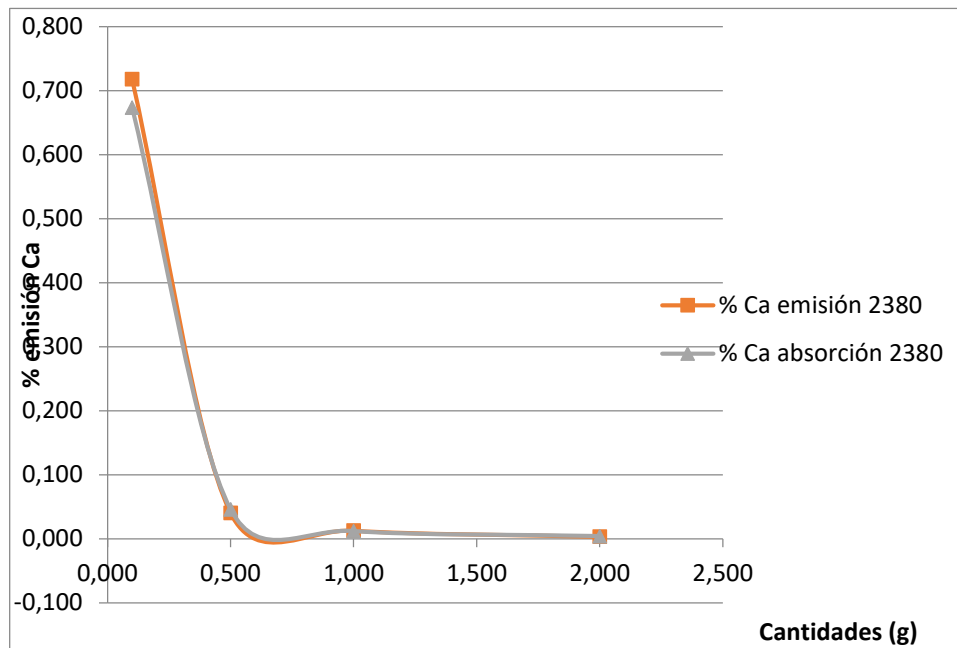
b) CALCIO

Los resultados para calcio se muestran en la Tabla 4. Se utilizó el equipo PE 2380 y se realizaron dos réplicas para cada valor. Para calcio se bajó la cantidad de muestra hasta 0,1 gramos. Es un elemento que se encuentra en mayor concentración en la muestra y se trata de ajustar las señales dentro del rango de trabajo de la técnica.

En principio, parece que cuanto mayor es la cantidad de muestra pesada para calcio se libera menos metal. Además es muy poca cantidad, como mucho un 0.5 % para 0,1 gramos, la cantidad de Calcio liberado. Este estudio proporcionó una idea de cuanta masa se debía tomar para las lixiviaciones.

Cantidad (g)	C obtenida (mg/L)	mg Ca/g muestra	% Ca absorción 2380
0,1 g	1,86±0,3	0,79±0,02	0,67±0,05
0,5 g	2,38±0,29	0,23±0,02	0,050±0,003
1 g	2,53±0,29	0,12±0,02	0,0120±0,0002
2 g	3,28±0,28	0,081±0,02	0,004±0,00001
Cantidad (g)	C obtenida (mg/L)	mg Ca/g muestra	% Ca emisión 2380
0,1 g	1,98±0,28	0,85±0,06	0,72±0,03
0,5 g	2,10±0,28	0,21±0,06	0,040±0,003
1 g	2,71±0,26	0,13±0,06	0,013±0,0002
2 g	2,53±0,27	0,063±0,06	0,003±0,0001

Tabla 4- Porcentajes de absorción y emisión de calcio en el PE2380



Gráfica 4- Porcentajes de absorción y emisión de calcio en el PE2380

4.2. Caracterización de la muestra. Estudio de parámetros físico-químicos

Se ha llevado a cabo un estudio para conocer diversos parámetros físico-químicos del suelo que lo caracterizan: humedad, pH y conductividad. Se dispone de información sobre el pH, que está entre 5.5 y 6.5 y la conductividad (1640 microOhmios/cm).

El porcentaje de humedad que lleva el suelo analizado es $40,2 \pm 1,98$ %. Durante todo el trabajo se desecó la muestra y los datos obtenidos se refieren a gramos de muestra seca.

En cuanto a la conductividad y pH de la muestra, se miden al añadir agua a la muestra y agitar durante una hora. En suelos de cultivo se miden en las aguas cercanas al suelo (de riego, etc.) o directamente en el suelo, cerca de las raíces de las plantas, con sondas como la utilizada en el TFG. En el laboratorio la forma de determinar estos parámetros es poner en contacto el sólido con agua desionizada, agitar durante una hora y medir pH y conductividad en el sobrenadante. (Se han realizado dos réplicas)

La tabla 5 presenta los datos obtenidos. Como se iban a realizar lixivaciones con otros medios distintos al agua, también aparece en la tabla los datos resultantes en estos casos. La medida de la incertidumbre corresponde a la desviación de cada una de las dos réplicas (dos tubos falcón) medida una sola vez.

El objeto de estudio tiene pH 5.5-6.5 y el obtenido es de 7,2, algo mayor de lo esperado. Se repitió la medición días consecutivos y se obtuvo el mismo valor. Habitualmente los suelos tienen un pH entre 5.5 y 7. Los suelos con pHs neutros, como es el caso, permiten una mayor disponibilidad de especies nutrientes, y así pueden ser absorbidos por las plantas. No es un suelo alcalino, pero denota presencia de sales solubles, sales que contienen calcio o sodio.

En cuanto a la conductividad, los suelos son conductores por la presencia de iones positivos y negativos. Estos iones se movilizan y van a ser biodisponibles. Esta movilidad va a ser favorecida por la propia humedad del suelo. Una alta conductividad va asociada a alta salinidad, que puede favorecer el transporte de nutrientes o ser perjudicial, tiene varias funciones.

Este suelo tiene elevada conductividad y consecuentemente presencia de iones. En agua es baja la conductividad medida experimentalmente como se observa en la tabla; pero se trata de agua desionizada (conductividad=0.055 $\mu\text{S}/\text{cm}$) y la conductividad observada es únicamente debida a las sales que han pasado a la disolución en un tiempo de contacto corto.

En cuanto al resto de medios estudiados, respecto al pH se observa que aumenta o disminuye según las características ácido-base del medio, algo esperable. Asimismo, la conductividad en estos medios es del orden de la que en principio tiene esta muestra. Se trata de medios químicos con elevada cantidad de especies cargadas y favorecen la movilidad.

AGENTE LIXIVIANTE	Conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	pH
Agua MiliQ	550 \pm 70	7,2 \pm 0,03
HNO ₃ 1%	1280 \pm 14	3,9 \pm 0,06
EDTA 1%	1025 \pm 92	6,8 \pm 0,02
EDTA 5%	1415 \pm 21	6,1 \pm 0,07
HAc 1%	1880 \pm 56	4,8 \pm 0,05
NH ₄ NO ₃ 1%	1060 \pm 56	5,3 \pm 0,05

Tabla 5 -Valores de conductividad, pH y humedad en distintos medios

4.3 Determinación del contenido total de Fe y Ca en suelos

El resultado de la digestión ácida de la muestra mediante dos ácidos distintos aparece en la tabla 6. El dato siempre se refiere a muestra seca. Se observa que el contenido de calcio es muy superior al de hierro, como cabía esperar, ya que calcio es un elemento mayoritario en suelos.

Ataque ácido	mg Fe/g muestra	mg Ca/g muestra seca
HNO ₃ - H ₂ O ₂	2,92 \pm 0,23	39,39 \pm 1,97
H ₂ SO ₄	2,31 \pm 0,27	-----

Tabla 6- Determinación del contenido total de Fe y Ca en suelos

En el apartado 7, en el Anexo II, se recoge un modelo de tabla ejemplo utilizado para la determinación del contenido total de hierro y calcio.

4.4 Determinación de la cantidad de Fe liberada en distintos medios

En los apartados 4.4 y 4.5 se estudian procedimientos de extracción de Fe y Ca con varios agentes extractantes y a diferentes tiempos. Los métodos de extracción S-L se plantean para liberar metales y que sean biodisponibles por las plantas. El tomar distintas fracciones de suelo y de forma independiente comprobar esa liberación ayuda a evaluar cuánto metal se libera en función del disolvente y del tiempo. Los agentes extractantes pueden ser de carácter ácido, de carácter quelante, disoluciones tamponadas, etc. En cuanto al tiempo, el metal se puede liberar rápidamente y los equilibrios que tienen lugar son rápidos, liberándose la mayor parte del metal al inicio de la lixiviación, o puede ser una liberación más gradual con el tiempo.

El estudio de estos temas se inició con hierro. En este bloque se va a conocer la cantidad de hierro liberada en distintos medios y a diferentes tiempos (10 minutos, 30 minutos, 1 hora, 2 horas y 4 horas). Los medios lixiviantes con los que se trabaja son: agua ultra pura miliQ, HNO₃ 1%, CH₃COOH 1%, EDTA 1% y EDTA 5%. Se trata de extraer con agua, un medio con gran capacidad de liberar especies fácilmente solubles, dos extracciones ácidas, con un ácido débil y otro fuerte, y el uso del EDTA, agente quelante) a dos concentraciones distintas.

En el apartado 7, en el Anexo III, se recoge una tabla que se toma como plantilla y que se va rellenando cada vez para los diferentes estudios llevados a cabo. El estudio es sistemático para todos los subapartados.

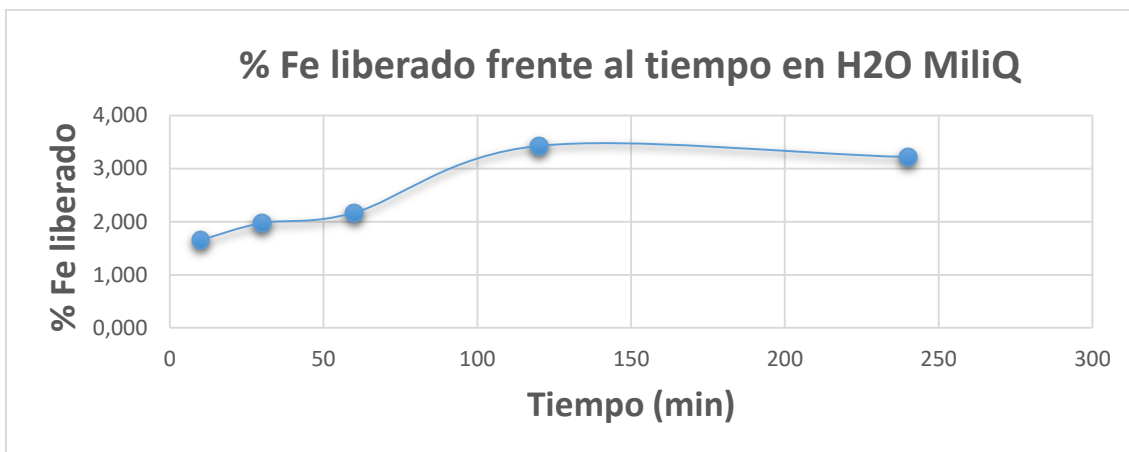
4.4.1 Determinación de la cantidad de Fe liberada en agua

En agua se liberan cationes fácilmente intercambiables; es un agente lixiviante suave. En la tabla 7 se pueden ver las cantidades de hierro liberadas en agua, así como los porcentajes de liberación de hierro frente al contenido total de hierro a diferentes tiempos.

MEDIO: AGUA ULTRAPURA MILIQ			
Tiempos	C obtenida (mg/L)	mg Fe / g muestra	% Fe liberado
10 minutos	1,02±0,67	0,048±0,007	1,65±0,14
30 minutos	1,16±0,67	0,058±0,006	1,97±0,06
1 hora	1,29±0,66	0,063±0,006	2,17±0,1
2 horas	2,00±0,65	0,100±0,005	3,43±0,25
4 horas	1,97±0,65	0,094±0,003	3,22±0,47

Tabla 7- Cantidad de hierro liberada en agua ultrapura a distintos tiempos

En primera hora se alcanza un 2% de Fe liberado (calculado respecto de la cantidad total de Fe en la muestra seca). Pero ya a los 10 minutos se libera un 6%. La disolución del hierro es rápida. A partir de las dos horas de contacto parece que ya se mantiene constante el Fe liberado.



Gráfica 5- Porcentaje de Fe liberado versus tiempo de extracción

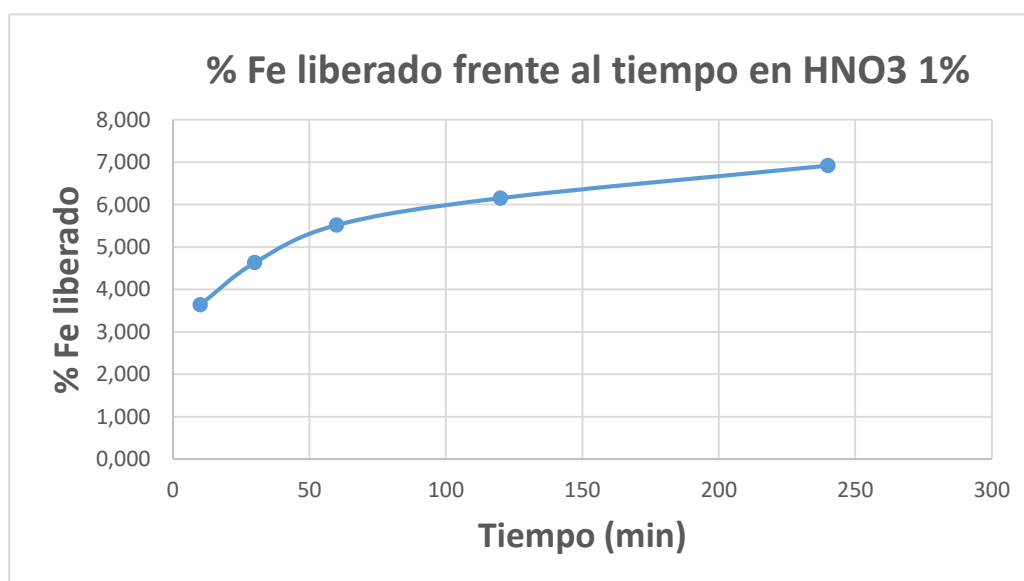
4.4.2 Determinación de la cantidad de Fe liberada en ácido nítrico diluido

Los ácidos diluidos liberan y solubilizan metales, y su capacidad liberadora es mayor que la del agua por sus características de acidez. En la tabla 8 y gráfica 6 se pueden ver los resultados de una extracción con ácido oxidante diluido, nítrico al 1%.

MEDIO:ÁCIDO NÍTRICO DILUIDO AL 1%

Tiempos	C obtenida (mg/L)	mg Fe / g muestra	% Fe liberado
10 minutos	2,18±0,64	0,11±0,06	3,64±0,84
30 minutos	2,82±0,63	0,13±0,05	4,63±1,02
1 hora	3,40±0,62	0,16±0,04	5,52±0,55
2 horas	3,73±0,61	0,18±0,04	6,15±0,43
4 horas	4,17±0,60	0,20±0,07	6,92±0,65

Tabla 8- Cantidad de hierro liberada en ácido nítrico diluido al 1% a distintos tiempos



Gráfica 6- Porcentaje de Fe liberado en ácido nítrico al diluido al 1% frente al tiempo

La liberación de hierro en este medio es mayor debido a que a pHs ácidos el catión ácido pasa más fácilmente a disolución. La cantidad liberada es aproximadamente el doble de antes. Y el comportamiento del equilibrio es similar: así el 50 % del Fe liberado se obtiene en los primeros minutos. No se estudió un tiempo de contacto mayor porque se consideró que la tendencia de la variación era aumento gradual y a partir de 2 horas estable.

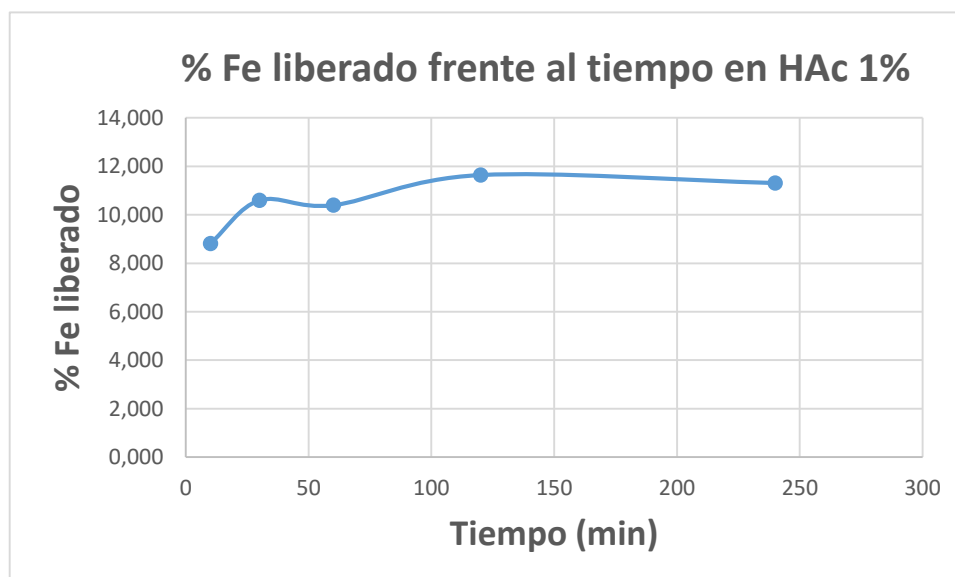
4.4.3 Determinación de la cantidad de Fe liberada en HAc al 1%

En la tabla 9 y gráfica 7 se pueden ver los resultados de una extracción con ácido débil, formándose el acetato de hierro (III).

MEDIO: ÁCIDO ACÉTICO DILUIDO AL 1%			
Tiempos	C obtenida (mg/L)	mg Fe / g muestra	% Fe liberado
10 minutos	6,54±0,55	0,26±0,02	8,8±0,26
30 minutos	7,07±0,54	0,31±0,02	10,5±0,53
1 hora	8,68±0,54	0,30±0,02	10,3±0,65
2 horas	9,39±0,54	0,34±0,02	11,6±1,23
4 horas	9,56±0,54	0,33±0,02	11,3±0,36

Tabla 9- Cantidad de hierro liberada en ácido acético diluido al 1% a distintos tiempos

La capacidad lixiviante del ácido acético es mayor que la del ácido nítrico para el caso de hierro. En general, es uno de los ácidos típicos para realizar extracciones. No proporciona pHs muy bajos y libera metal. Prácticamente el 80-82 % del Fe total liberado se obtiene en los primeros 10 minutos, es un proceso rápido.



Gráfica 7- Porcentaje de Fe liberado en ácido acético diluido al 1% frente al tiempo

4.4.4 Determinación de la cantidad de Fe liberada en EDTA 1% y 5%

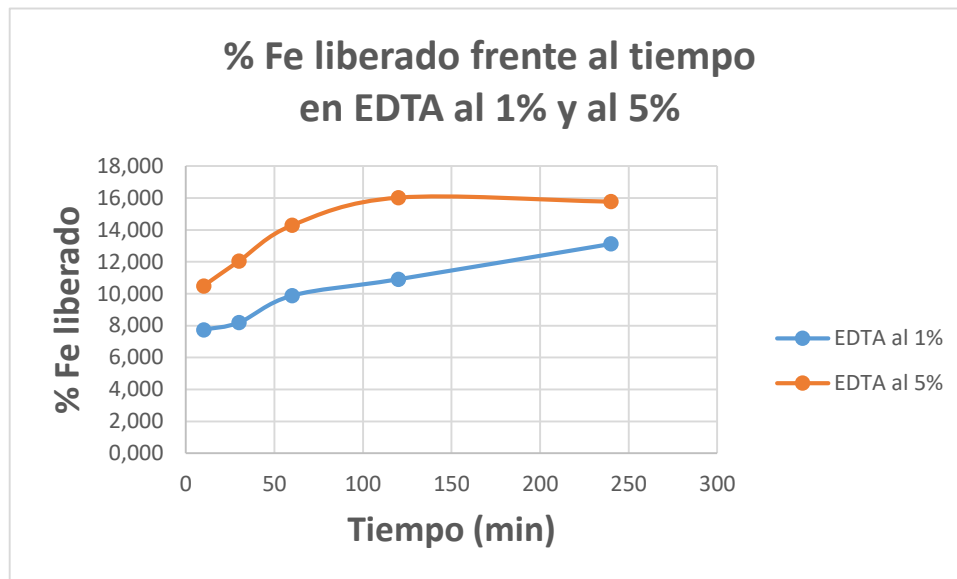
Los agentes complejantes como el EDTA solubilizan especies fácilmente intercambiables, como el caso del agua o ácidos diluidos, y también liberan especies que en los suelos están unidas a materia orgánica u otras especies presentes. En las tablas 10 y 11 y gráficas 8 y 9 se presentan los resultados obtenidos al emplear un agente quelante como el EDTA. El equilibrio puesto en juego en este caso es el de formación de complejos y así, como complejo, (FeY^- , $\log K'1 = 25$) se libera el metal. Se ha trabajado con dos concentraciones diferentes para comprobar también su influencia.

MEDIO: EDTA AL 1%			
Tiempos	C obtenida (mg/L)	mg Fe / g muestra	% Fe liberado
10 minutos	4,81±0,58	0,226±0,042	7,738±0,34
30 minutos	4,812±0,58	0,239±0,045	8,19±0,25
1 hora	5,997±0,56	0,289±0,05	9,881±0,54
2 horas	6,392±0,55	0,319±0,05	10,911±0,43
4 horas	7,97±0,54	0,383±0,34	13,127±0,23

Tabla 10- Cantidad de hierro liberada en EDTA 1% a distintos tiempos

MEDIO: EDTA AL 5%			
Tiempos	C obtenida (mg/L)	mg Fe / g muestra	% Fe liberado
10 minutos	6,540±0,55	0,306±0,04	10,488±0,31
30 minutos	7,075±0,54	0,352±0,04	12,042±0,34
1 hora	8,678±0,54	0,417±0,02	14,287±0,12
2 horas	9,39±0,54	0,468±0,02	16,021±0,05
4 horas	9,56±0,54	0,46±0,04	15,77±0,15

Tabla 11- Cantidad de hierro liberada en EDTA 5% a distintos tiempos



Gráfica 8- Porcentaje de Fe liberado en EDTA al 1% y al 5% frente al tiempo

El uso de EDTA, como se esperaba, trae consigo una mayor liberación de hierro, que se moviliza en forma de complejo; cuanto mayor es la cantidad de ligando, mayor es el % de Fe liberado. En general, al aumentar cinco veces la concentración de ligando se ha observado alrededor de un 30 % de aumento de la cantidad liberada.

4.5 Determinación de la cantidad de Ca liberada en distintos medios

Este apartado es similar en su planteamiento al anterior. La diferencia radica en que la cantidad de calcio en la muestra es mayor, por lo que se toma menor cantidad de muestra para realizar la lixiviación. Además es una especie que fácilmente se solubiliza y no se retiene tanto como el hierro. Aquí se probaron menos agentes que con Fe. Primeramente agua, luego se probó con EDTA y con nitrato amónico. El nitrato amónico es una sal con gran capacidad de solubilizar y liberar cationes intercambiables fácilmente como es el calcio. Los datos proporcionados corresponden a la medida de dos réplicas.

4.5.1 Determinación de la cantidad de Ca liberada en agua ultrapura miliQ

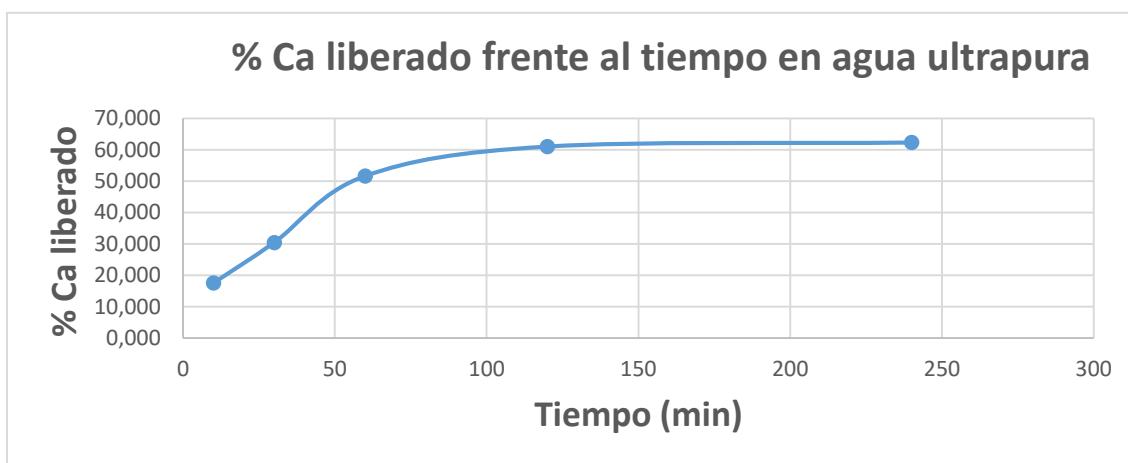
De los tres agentes lixiviantes estudiados, el más habitual para liberar calcio es el agua. En la tabla 12 se pueden ver las cantidades de calcio liberadas en agua ultrapura, así como los porcentajes de liberación de calcio frente al contenido total de calcio a diferentes tiempos.

MEDIO: AGUA ULTRAPURA

Tiempos	C obtenida (mg/L)	mg Ca/g de muestra	% Ca liberado frente a Ca total
10 minutos	0,029±0,005	7,01±0,25	17,5±0,06
30 minutos	0,051±0,005	12,16±0,25	30,4±0,31
1 hora	0,094±0,005	20,65±0,27	51,6±0,76
2 horas	0,116±0,005	24,41±0,3	61,0±0,02
4 horas	0,138±0,005	24,92±0,3	62,3±0,89

Tabla 12- Cantidad de calcio liberada en agua ultrapura a distintos tiempos

En la gráfica 10 queda reflejado el aumento de calcio liberado hasta una hora donde frena su crecimiento. A partir de las dos horas permanece estable en torno a un 60% de calcio disuelto. La forma del gráfico indica que la liberación es gradual y que alrededor de un 30 % del total liberado se alcanza en los primeros diez minutos.



Gráfica 9- Porcentaje de Ca liberada en agua ultrapura frente al tiempo

4.5.2 Determinación de la cantidad de Ca liberada en EDTA al 1%

En la tabla 13 se pueden ver las cantidades de calcio liberadas en EDTA al 1%, así como los porcentajes de liberación de calcio frente al contenido total de calcio a diferentes tiempos.

MEDIO: EDTA AL 1%

Tiempos	C obtenida (mg/L)	mg Ca/g de muestra	% Ca liberado frente a Ca total
10 minutos	0,16±0,03	38,3±1,2	95,9±0,05
30 minutos	0,16±0,03	35,4±1,3	88,7±0,02

Tabla 13- Cantidad de calcio liberada en EDTA al 1% a distintos tiempos

El EDTA forma complejo con calcio ($\log K' = 11$); es un catión que se intercambia fácilmente en agua, así que se asumió que en otros medios con mayor poder lixiviante, como el EDTA, el calcio se liberaría en mayor medida. Y así fue, ya que desde el primer momento prácticamente todo el Ca presente pasó a disolución. Se hicieron pruebas manteniendo la lixiviación más tiempo, pero se encontraron porcentajes superiores al

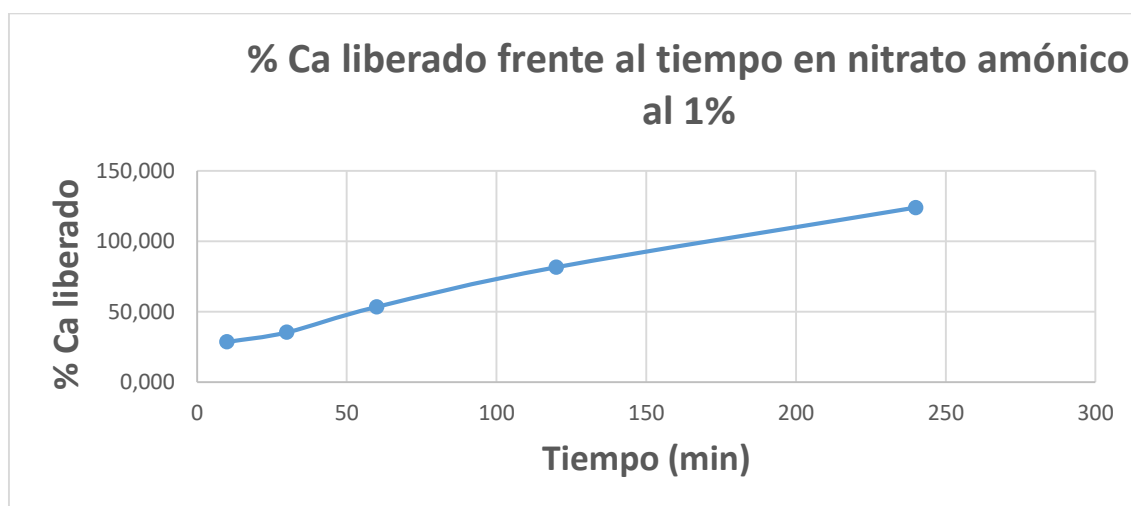
100 %, y se dedujo que podía haber interferencias en el método y que se debería seguir haciendo más experimentos, como ensayos de recuperación.

4.5.3 Determinación de la cantidad de Ca liberada en NH_4NO_3 al 1%

En la tabla 14 y gráfica 11 se muestran los resultados al usar nitrato amónico. No es un agente tan potente como el EDTA, pero solubiliza un 80 % del calcio a las dos horas. Se puede observar que aquí también se encuentra un dato erróneo con un tiempo de contacto de cuatro horas. El calcio se libera en menos tiempo y esos porcentajes superiores a 100 tanto en este tiempo para nitrato amónico como para el EDTA se derivan de que puede haber algún tipo de interferencias que hace que haya otros procesos de liberación simultáneos, interferencias, y no es interesante mantener un tiempo mayor de lixiviación, no mejora el resultado.

MEDIO: NITRATO AMÓNICO AL 1%			
Tiempos	C obtenida (mg/L)	mg Ca/g de muestra	% Ca liberado frente a Ca total
10 minutos	0,051±0,33	11,4±1,5	28,5±0,36
30 minutos	0,072±0,33	14,1±1,5	35,3±0,24
1 hora	0,094±0,33	21,3±1,5	53,4±0,07
2 horas	0,160±0,34	32,6±1,5	81,5±0,30
4 horas	0,269±0,34	49,5±1,5	123±0,22

Tabla 14- Cantidad de calcio liberada en nitrato amónico a distintos tiempos



Gráfica 10- Porcentaje de Ca liberado en nitrato amónico al 1% frente al tiempo

La Tabla 15 presenta la tendencia observada para calcio

Tiempos	% Ca liberado en agua	% Ca liberado en EDTA	% Ca liberado en NH_4NO_3
30 minutos	30,4±0,31	88,7±0,02	35,3±0,24
2 horas	61,0±0,02	no	81,5±0,30

5. CONCLUSIONES.

Las conclusiones que se extraen de los estudios realizados son las siguientes:

1. Se realiza una comparación de las prestaciones de dos espectrómetros de absorción atómica diferentes; se utilizan herramientas estadísticas y se llega a la conclusión de que uno ofrece mayor sensibilidad y es el elegido para los experimentos del trabajo.
2. Se estudia el peso de muestra adecuado para realizar los estudios de liberación de Fe y Ca, fijándolos en 1 y 0.1 gramos respectivamente.
3. Se ha llevado a cabo una caracterización físico-química básica de la muestra. Su humedad es 40,2±1,98 %. El suelo estudiado tiene un pH neutro y una conductividad en agua desionizada de 550 microsiemens/cm.
4. Cuando se realiza una lixiviación en medios diferentes al agua desionizada, se observa que el pH aumenta o disminuye según las características ácido-base del medio. Y que la conductividad es superior a 1000 microsiemens/cm.
5. Se ha llevado a cabo una digestión ácida en sistemas abiertos (vasos de teflón y calentamiento en baño de arena). Los contenidos totales obtenidos mediante este ataque para hierro y calcio son respectivamente: 2,92±0,23% y 39,39±1,97%.
6. Para conocer la cantidad de hierro y calcio liberada en distintos medios se ha hecho un estudio variando el tipo de agente lixivante y el tiempo de lixiviación, llegando a las siguientes conclusiones:
 - El medio en el que se obtiene un mayor porcentaje de liberación de hierro es con el uso de un agente quelante, EDTA 5%.
 - El calcio es un elemento fácilmente liberable en los medios estudiados.

6. BIBLIOGRAFÍA.

1. Li, L., Mao, K., Ippolito, J. A., Xing, W., Chen, X., Zhu, W., & Cheng, Y. Calcium amendments affect heavy metal bioavailability in acidic and calcareous soils. *International Journal of Environmental Science and Technology*. **2022**, 1-10; DOI:10.1007/s13762-021-03840-y
2. Habibollahi, M. H., Karimyan, K., Arfaeina, H., Mirzaei, N., Safari, Y., Akramipour, R., Sharafi, H., & Fattahi, N. (2019). Extraction and determination of heavy metals in soil and vegetables irrigated with treated municipal wastewater using new mode of dispersive liquid–liquid microextraction based on the solidified deep eutectic solvent followed by GFAAS. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **2019**, 99(2), 656–665; DOI: 10.1002/jsfa.9230
3. Kumar Pradhan, S., Ambade, B., & Kumar Tarafder, P. Speciation of Fe(II) and Fe(III) in Geological Samples by Solvent Extraction and Flame Atomic Absorption Spectrometry (FAAS). In *Atomic Spectroscopy* (Vol. 40, Issue 4). **2019**, 145-151; DOI:10.46770/AS.2019.04.006
4. Dean, John R. *Environmental Trace Analysis, 1st ed; Wiley: New York, 2003; pp 63-65*
5. Li, Y. jiao, Hu, P. jie, Zhao, J., & Dong, C. xun. Remediation of cadmium- and lead-contaminated agricultural soil by composite washing with chlorides and citric acid. *Environmental Science and Pollution Research*. **2015**, 22(7), 5563–5571; DOI: 10.1007/s11356-014-3729-z
6. Morales Arteaga, J. F., Gluhar, S., Kaurin, A., & Lestan, D. Simultaneous removal of arsenic and toxic metals from contaminated soil: Laboratory development and pilot scale demonstration. *Environmental Pollution*, **2022**, 294. DOI: 10.1016/j.envpol.2021.11856
7. Apuntes de la asignatura Análisis de Medioambiental y de Tóxicos Dra M^a Sierra Jiménez, Dra M^a Teresa Gómez. (2022). *TEMA 5 TÉCNICAS Y METODOLOGÍAS EN EL CONTROL ANALÍTICO DE CONTAMINANTES INORGÁNICOS. ESPECIACIÓN FUNCIONAL Y QUÍMICA*.
8. Tadini, A., Nicolodelli, G., Marangoni, B. S., Mounier, S., Montes, C., & Milori, D. M. B. P. Evaluation of the roles of metals and humic fractions in the podzolization of soils from the Amazon region using two analytical spectroscopy techniques. *Microchemical Journal*. **2019** 144, 454–460; DOI:10.1016/j.microc.2018.10.009
9. Xia, X., Xiang, L., Tong, Y., Shao, F., Li, B., Sun, Y., & Zhang, H. Bioaccessibility of Metals in Soils at Typical Legacy Industrial Sites: In Vitro Evaluation Using Physiologically-Based Extraction. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. **2022**, 120-122; DOI:10.1017/s00128-022-03468
10. SA Osakwe, OV Akpoveta, BE Okoh & OK Ize-Iyamu . Formas químicas de metales pesados en suelos alrededor de vertederos de desechos municipales en Asaba

- Metropolis, Delta State, Nigeria, Especificación química y biodisponibilidad.2012 , 23-30
11. Solano Marín, A.M., Martínez Sanchez, M.J., Movilización de metales pesados en residuos y suelos industriales afectados por la hidrometalurgia del cinc. **2008**, 30-35
 12. López Julián, P. L., Mandado Collado, J. M., & Mandado Collado, J. M. Extracciones Químicas Secuenciales De Metales Pesados. Aplicación en Ciencias Geológicas. *Estudios Geológicos*. **2002**, 58, 133-144; DOI: 10.3989/egeol.02585-6118
 13. Suska-Malawska, M., Vyrakhamanova, A., Ibraeva, M., Poshanov, M., Sulwiński, M., Toderich, K., & Mętrak, M. Spatial and In-Depth Distribution of Soil Salinity and Heavy Metals (Pb, Zn, Cd, Ni, Cu) in Arable Irrigated Soils in Southern Kazakhstan. *Agronomy*. **2022**, 12(5), 1207; DOI: 10.3390/agronomy12051207
 14. da Silva Medeiros, D. C. C., Piechontcoski, F., da Rocha Watanabe, E. R. L., Chaves, E. S., & Inglez, S. D. Fast and effective simultaneous determination of metals in soil samples by ultrasound-assisted extraction and flame atomic absorption spectrometry: assessment of trace elements contamination in agricultural and native forest soils from Paraná - Brazil. *Environmental Monitoring and Assessment*. **2022**, 192; DOI: 10.1007/s10661-020-8065-0
 15. Akbarpour, F., Gitipour, S., Baghdadi, M., & Mehrdadi, N. (2021). Correlation between chemical fractionation of heavy metals and their toxicity in the contaminated soils. *Environmental Earth Sciences*. **2021** ,21; DOI:10.1007/s12665-021-10024-x
 16. Bisone, S., Blais, J. F., Drogui, P., & Mercier, G. Toxic metal removal from polluted soil by acid extraction. *Water, Air, and Soil Pollution*. **2012**, 223(7), 3739–3755; DOI: 10.1007/s11270-012-1145-1
 17. Azadi, N., & Raiesi, F. Salinization depresses soil enzyme activity in metal-polluted soils through increases in metal mobilization and decreases in microbial biomass. *Ecotoxicology*. **2012**, 30(6), 1071–1083; DOI: 10.1007/s10646-021-02433-2
 18. Guillén, M. T., Delgado, J., Gómez-Arias, A., Nieto-Liñán, J. M., & Castillo, J. Bioaccessibility and human exposure to metals in urban soils (Huelva, SW Spain): evaluation by in vitro gastric extraction. *Environmental Geochemistry and Health*. **2022**, 44(5), 1501–1519; DOI:10.1007/S10653-021-00814-4
 19. *Environmental Engineering and Management* <http://omicron.ch.tuiasi.ro/EEMJ/> (accesed 2015)
 20. Nugraha, E. D., Mellawati, J., Wahyudi, Kranrod, C., Makhsun, Tazoe, H., Ahmad, H., Hosoda, M., Akata, N., & Tokonami, S. Heavy Metal Assessments of Soil Samples from a High Natural Background Radiation Area, Indonesia. *Toxics*. **2022**, 2-8; DOI: 10.3390/toxics10010039
 21. de Jesus, A., Zmozinski, A. v., Laroque, D. O., & da Silva, M. M. Sequential multi-element determination of trace-metals in biodiesel samples using HR-CS FAAS. *Quimica Nova*. **2021**, 44(2), 205–210; DOI: 10.21577/0100-4042.201768