

**CONTRIBUCIÓN DE FRACCIÓN FÚLVICA EN RETENCIÓN DE CROMO
HEXAVALENTE EN SUELOS ALTOANDINOS DE LA MICROCUENCA SANTA
TERESA**

MAIRA GHISSEL SÁNCHEZ MEZA



**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN
2013**

**CONTRIBUCIÓN DE FRACCIÓN FÚLVICA EN RETENCIÓN DE CROMO
HEXAVALENTE EN SUELOS ALTOANDINOS DE LA MICROCUENCA SANTA
TERESA**

**Presentado por:
MAIRA GHISSEL SÁNCHEZ MEZA**

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de
Química**

**Directora
M. Sc. ISABEL BRAVO REALPE
PROFESORA TITULAR DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN
2013**

Nota de aceptación:

Director _____
Isabel Bravo Realpe, M. Sc.

Jurado _____
Jaime Martin Franco, Ph D.

Jurado _____
René Zúñiga Rengifo, M. Sc.

Fecha de sustentación: Noviembre 12 de 2013

AGRADECIMIENTOS

Le agradezco a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser la luz que me dio fortaleza en los momentos de debilidad.

Le doy gracias a mis padres Henry y Deissy por brindarme su apoyo en todo momento, por los valores que me han inculcado, por haberme dado la oportunidad de tener una excelente educación en el transcurso de mi vida y sobre todo por ser un excelente ejemplo de vida a seguir. A mis hermanos Henry y Melissa y a mi amada sobrina Ana Sofía, por ser parte importante de mi vida y representar la unidad familiar.

A mi familia por estar siempre acompañándome en mis logros, a mi tía Nilva por su apoyo tan grande, a mi abuela Olga y a mi abuelo Marciano Q.E.P.D, quienes me enseñaron que debo luchar por alcanzar mis sueños.

A mí amado Ivan por ser una parte muy importante de mi vida, por haberme apoyado en las buenas y en las malas, por toda su paciencia y amor incondicional, por ser el apoyo en todas mis decisiones, por ser partícipe de mi trabajo experimental y por acompañarme en las largas jornadas de trabajo. Te agradezco a ti, por ser mi novio, mi mejor amigo, mi confidente y mi consejero.

A mi directora de grado, la profesora Isabel Bravo Realpe, mil gracias por la paciencia, la dedicación, por guiarme como profesional y como persona, que Dios la bendiga y la colme de alegría junto a su familia.

A mis compañeros del grupo de agroquímica Adriana, Cristian, Marcela, Camilo y Claudia quienes de alguna manera me brindaron su colaboración, muchas gracias.

A Jeyson quien me acompañó desde el comienzo de la carrera y ha sido un amigo incondicional.

Gracias a todos mis profesores y amigos de la Universidad del Cauca, quienes se encargaron de guiarme en mi carrera y me ayudaron en mi formación tanto académica como personal.

Muchas gracias

CONTENIDO

	pág.
RESUMEN	18
1. INTRODUCCIÓN	19
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	20
3. OBJETIVOS	21
3.1 OBJETIVO GENERAL	21
3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	21
4. ESTADO DEL ARTE Y MARCO TEÓRICO	22
4.1. SUELOS ALTOANDINOS	22
4.2 ANDISOLES	23
4.3 MATERIA ORGÁNICA DEL SUELO	24
4.3.1 Composición de la materia orgánica	24
4.3.1.1 Las Sustancias Húmicas	24
4.3.1.1.1 Los Ácidos Húmicos	25
4.3.1.1.2 Las Huminas	25
4.3.1.1.3 Ácidos fúlvicos	25
4.3.1.1.3.1 Formación, composición y estructura de los Ácidos Fúlvicos	26
4.3.1.1.3.2 Interacción Ácido Fúlvico-metal	30
4.4 METALES PESADOS EN EL AMBIENTE	31
4.4.1 Biodisponibilidad de metales pesados	32
4.4.1.1 Procesos del suelo involucrados en la biodisponibilidad de metales pesados	32
4.4.1.1.1 Intercambio catiónico	32
4.4.1.1.2 Adsorción específica	32
4.4.1.1.3 Precipitación	33
4.4.1.1.4 Complejación y quelación	33
4.4.1.2 Factores del suelo relacionados con la biodisponibilidad	33
4.4.1.2.1 pH	33
4.4.1.2.2 Contenido de materia orgánica	33
4.4.1.2.3 Contenido y tipo de arcillas	34
4.4.1.2.4 Potencial redox	34
4.4.1.2.5 Óxidos de Hierro, Aluminio y Manganeseo	34
4.4.2 El cromo	34
4.4.2.1 El cromo en el ambiente	35
4.4.2.2 Especiación de Cromo (VI)	37
4.4.2.3 Métodos de remoción de Cromo VI	38
5. METODOLOGÍA	39
5.1 LOCALIZACIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO	39
5.2 EXTRACCION DE LA FRACCIÓN FÚLVICA	40
5.2.1 Separación de la materia orgánica humificada (MOH) de la materia orgánica fresca (MOF).	40
5.2.2 Extracción Secuencial de las Sustancias Húmicas	41
5.2.3 Floculación de Arcillas	42

5.2.4	Separación de ácidos húmicos de la fracción fúlvica	43
5.3	IMPLEMENTACIÓN Y EVALUACIÓN DEL MÉTODO COLORIMÉTRICO PARA LA DETERMINACIÓN DE CROMO HEXAVALENTE SOLUBLE CON DIFENILCARBAZIDA (DFC).	43
5.4	ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO DE ABSORCIÓN ATÓMICA PARA LA DETERMINACIÓN DE CROMO TOTAL.	45
5.5	DETERMINACIÓN DE LA RETENCIÓN DE CROMO HEXAVALENTE Y TOTAL EN LA FRACCIÓN DE ÁCIDOS FÚLVICOS.	45
5.5.1	Determinación de cromo retenido por el método de la DFC	46
5.5.2	Determinación de cromo total por EAA	46
5.6	DETERMINACIÓN DE METALES PRESENTES EN LAS FRACCIONES DE LOS ÁCIDOS FÚLVICOS	46
5.7	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	47
6.	RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADO	48
6.1	CARACTERISTICAS DE LAS FRACCIONES DE ÁCIDOS FÚLVICOS	48
6.2	IMPLEMENTACION Y ESTANDARIZACION DE LAS METODOLOGIAS	48
6.2.1	Implementación y estandarización de Cr VI por UV-Vis	48
6.2.1.1	Linealidad instrumental del método de determinación de Cr VI por UV-Vis	49
6.2.1.2	Precisión instrumental del método de determinación de Cr VI por UV-Vis.	54
6.2.1.3	Limites críticos del método de determinación de Cr VI por UV-Vis	54
6.2.1.4	Validación de la metodología del método de determinación de Cr VI por UV-Vis	56
6.2.2	Implementación del método de determinación de Cr total por EAA	57
6.2.2.1	Linealidad instrumental de cromo total por EAA	58
6.2.2.2	Precisión instrumental del método de determinación de Cr total por EAA.	62
6.2.2.3	Limites críticos del método de determinación de Cr total por EAA.	62
6.2.2.4	Validación de la metodología de Cr total por EAA.	64
6.3	DETERMINACIÓN DE CROMO TOTAL EN LOS ÁCIDOS FÚLVICOS MEDIANTE EAA	66
6.4	DETERMINACIÓN DEL CROMO VI RETENIDO EN LAS FRACCIONES DE ÁCIDOS FÚLVICOS	69
6.4.1	Cromo VI retenido en la Fracción de Ácido Fúlvico de Bosque	70
6.4.1.1	Porcentaje de retención de Cr VI en la FAFB en función del tiempo y el nivel suministrado.	78
6.4.2	Cromo VI retenido en la Fracción de Ácido Fúlvico de Cultivo	83
6.4.2.1	Porcentaje de retención de Cr VI en la FAFC en función del tiempo y el nivel suministrado.	90

6.5	EFFECTO DEL CAMBIO DE USO EN LA CANTIDAD Y EL PORCENTAJE DE CROMO VI RETENIDO	96
6.6	CORRELACIÓN ENTRE LA CANTIDAD DE CROMO RETENIDO Y ALGUNAS PROPIEDADES DE LA MOH.	102
7.	CONCLUSIONES	105
	BIBLIOGRAFÍA	106
	ANEXOS	112

LISTA DE CUADROS

	pág.
Cuadro 1. Composición química promedio de los ácidos húmicos y fúlvicos.	29
Cuadro 2. Clasificación de los ácidos y bases de Lewis de acuerdo al concepto de Pearson (1963).	31
Cuadro 3. Umbrales españoles para el Cr (mg.kg ⁻¹) en suelos agrícolas.	36
Cuadro 4. Umbrales en aguas.	37
Cuadro 5. Algunas propiedades físicas y químicas de los ácidos fúlvicos.	48
Cuadro 6. Resultados para la evaluación de la linealidad instrumental del método de determinación de Cr VI por UV-Vis.	49
Cuadro 7. ANOVA de Absorbancia en función del nivel de concentración como variable independiente del método de determinación de Cr VI por UV-Vis.	50
Cuadro 8. Prueba de Bonferroni (post hoc) de absorbancia en función del nivel de concentración del método de determinación de Cr VI por UV-Vis.	50
Cuadro 9. ANOVA Absorbancia en función del día como variable independiente del método de determinación de Cr VI por UV-Vis.	51
Cuadro 10. Evaluación de la linealidad instrumental del método de determinación de Cr VI por UV-Vis.	52
Cuadro 11. Correlación de Pearson para evaluar linealidad de curvas del método de determinación de Cr VI por UV-Vis.	53
Cuadro 12. Resultados obtenidos en la evaluación estadística de la pendiente y el intercepto del método de determinación de Cr VI por UV-Vis.	53
Cuadro 13. Análisis de varianza para evaluar la regresión lineal en la curva de calibración del método de determinación de Cr VI por UV-Vis.	53
Cuadro 14. Precisión instrumental bajo condiciones de repetibilidad y precisión intermedia del método de determinación de Cr VI por UV-Vis.	54
Cuadro 15. Curvas de calibración bajo condiciones de repetibilidad del método de determinación de Cr VI por UV-Vis	55
Cuadro 16. Calculo del límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ) del método de determinación de Cr VI por UV-Vis.	56
Cuadro 17. Exactitud y precisión del método de determinación de Cr VI por UV-Vis en términos de Porcentajes de Recuperación.	56
Cuadro 18. Prueba estadística de homogeneidad de varianzas del método de determinación de Cr VI por UV-Vis.	57

Cuadro 19.	Exactitud y precisión para la metodología global en la determinación de Cr VI por UV-Vis con base en la media.	57
Cuadro 20.	Resultados para la evaluación de la linealidad instrumental del método de determinación de Cr total por EAA.	58
Cuadro 21.	ANOVA de Absorbancia en función del nivel de concentración como variable independiente del método de determinación de Cr total por EAA.	58
Cuadro 22.	Prueba de Bonferroni (post hoc) de absorbancia en función del nivel de concentración del método de determinación de Cr total por EAA.	59
Cuadro 23.	Prueba de Kruskal-Wallis, absorbancia en función del día del método de determinación de Cr total por EAA.	60
Cuadro 24.	Evaluación de la linealidad instrumental del método de determinación de Cr total por EAA.	60
Cuadro 25.	Correlación de Pearson para evaluar linealidad de curvas del método de determinación de Cr total por EAA.	61
Cuadro 26.	Resultados obtenidos en la evaluación estadística de la pendiente y el intercepto de curvas de calibración de Cr total por EAA.	61
Cuadro 27.	Análisis de varianza para evaluar la regresión lineal en la curva de calibración de Cr total mediante EAA.	61
Cuadro 28.	Precisión instrumental bajo condiciones de repetibilidad y precisión intermedia del método de determinación de Cr total por EAA.	62
Cuadro 29.	Curvas de Cr VI bajo condiciones de repetibilidad del método de determinación de Cr total por EAA.	63
Cuadro 30.	Calculo del límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ) del método de determinación de Cr total por EAA.	63
Cuadro 31.	Curva calibración con patrón de titrisol.	64
Cuadro 32.	Exactitud y precisión del método de determinación de Cr total por EAA.	65
Cuadro 33.	Prueba estadística de homogeneidad de varianzas para los niveles entre 2 y 5 del método de determinación de Cr total por EAA.	65
Cuadro 34.	Exactitud y precisión para la metodología global en la determinación de cromo total por EAA con base en la mediana.	66
Cuadro 35.	Valores prueba de Tukey del método de determinación de Cr total por EAA.	66
Cuadro 36.	Cromo total en las fracciones de ácidos fúlvicos para las diferentes dosis suministradas y en los diferentes días de determinación.	67
Cuadro 37.	Prueba t de la dosis encontrada (real) en función de la dosis suministrada en la FAFB.	68
Cuadro 38.	Prueba t de la dosis encontrada (real) en función de la dosis suministrada en el FAFC.	68

Cuadro 39.	Valores encontrados en la FAFB en relación al día y a la concentración del Cr VI retenido.	71
Cuadro 40.	Prueba de Kruskal-Wallis de cromo retenido en función del día, para el rango de 0,49-19,49 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFB.	73
Cuadro 41.	Prueba de Kruskal-Wallis de cromo retenido en función del día, para el rango de 38,99-97,47 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFB.	74
Cuadro 42.	Prueba de U de Mann-Whitney de Cr VI retenido en función del día para los niveles entre 38,99-97,47 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFB.	74
Cuadro 43.	Valores de medias de Cr VI retenido en función del tiempo de complejación, en el rango de 38,99-97,47 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFB.	74
Cuadro 44.	Prueba de Kruskal-Wallis de Cr VI retenido en función del Cr VI suministrado, para el rango de 0,49-19,49 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFB.	75
Cuadro 45.	Prueba de U de Mann-Whitney de Cr VI retenido en función del nivel de Cr VI suministrado, para el rango de 0,49-19,49 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFB.	76
Cuadro 46.	Valores de medias de Cr VI retenido en función del Cr VI suministrado, para el rango de 0,49-19,49 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFB.	76
Cuadro 47.	Prueba de Kruskal-Wallis de Cr VI retenido en función del Cr VI suministrado, para el rango de 38,99-97,47 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFB.	77
Cuadro 48.	Valores de medias de Cr VI retenido en función del Cr VI suministrado, para el rango de 38,99-97,47 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFB.	77
Cuadro 49.	Valores encontrados en la FAFB en relación al día y al % Cr VI retenido.	78
Cuadro 50.	Prueba Kruskal-Wallis de porcentaje Cr VI retenido en función del día, para el rango de 0,49-9,75 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFB.	80
Cuadro 51.	Prueba Kruskal-Wallis de porcentaje Cr VI retenido en función del día, para el rango de 19,49-97,47mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFB.	80
Cuadro 52.	Prueba de U de Mann-Whitney de porcentaje Cr VI retenido en función del día para los niveles entre 19,49-97,47mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFB.	80
Cuadro 53.	Valor de medias de porcentaje de Cr VI retenido en función del tiempo de complejación en el rango de 19,49-97,47 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFB.	81
Cuadro 54.	Prueba de Kruskal-Wallis de porcentaje de Cr VI retenido en función del Cr VI suministrado, para el rango de 0,49-9,75 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFB.	81
Cuadro 55.	Prueba de Kruskal-Wallis de porcentaje de Cr VI retenido en función del Cr VI suministrado, para el rango de 19,49-97,47mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFB.	82

Cuadro 56.	Prueba de U de Mann-Whitney de porcentaje de Cr VI retenido en función del nivel de Cr VI suministrado para el rango de 19,49-97,47 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFB.	83
Cuadro 57.	Valores encontrados en la FAFB en relación al día y a la concentración del Cr VI retenido.	83
Cuadro 58.	Prueba de Kruskal-Wallis de Cr VI retenido en función del día, para el rango de 0,48-9,56 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFB.	86
Cuadro 59.	Prueba de Kruskal-Wallis de Cr VI retenido en función del día, para el rango de 19,12-95,60 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFB.	86
Cuadro 60.	Prueba de U de Mann-Whitney de Cr VI retenido en función del día para los niveles entre 19,12-95,60 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFB.	86
Cuadro 61.	Valores de medias de Cr VI retenido en función del tiempo de complejación, en el rango de 19,12-95,60 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFB.	87
Cuadro 62.	Prueba de Kruskal-Wallis de Cr VI retenido en función del Cr VI suministrado, para el rango de 0,48-9,56 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFB.	88
Cuadro 63.	Prueba de U de Mann-Whitney de Cr VI retenido en función del nivel de Cr VI suministrado, para el rango de 0,48-9,56 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFB.	88
Cuadro 64.	Análisis de medias de Cr VI retenido en función del Cr VI suministrado, para el rango de 0,48-9,56 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFB.	88
Cuadro 65.	Prueba de Kruskal-Wallis de Cr VI retenido en función del Cr VI suministrado, para el rango de 19,12-95,60 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFB.	89
Cuadro 66.	Análisis de medias de Cr VI retenido en función del Cr VI suministrado, para el rango de 19,12-95,60 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFB.	90
Cuadro 67.	Valores encontrados en la Fracción Ácido Fólvico de Cultivo en relación al día y al % Retención de Cr VI.	90
Cuadro 68.	Prueba de Kruskal-Wallis de porcentaje de Cr VI retenido en función del día, para el rango de 0,48-9,56 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFB.	92
Cuadro 69.	Prueba de Kruskal-Wallis de porcentaje de Cr VI retenido en función del día, para el rango de 19,12-95,60 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFB.	92
Cuadro 70.	Prueba de U de Mann-Whitney de porcentaje de Cr VI retenido en función del día para los niveles entre 0,48-9,56 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFB.	93
Cuadro 71.	Prueba de U de Mann-Whitney de porcentaje de Cr VI retenido en función del día para los niveles entre 19,12-95,60 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFB.	93
Cuadro 72.	Análisis de medias de porcentaje de Cr VI retenido en función del tiempo de complejación, para el rango de 0,48-9,56 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFB.	93

Cuadro 73.	Análisis de medias de porcentaje de Cr VI retenido en función del tiempo de complejación, para el rango de 19,12-95,60 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFC.	93
Cuadro 74.	Prueba de U de Mann-Whitney de porcentaje de Cr VI retenido en función del nivel de Cr VI suministrado, para el rango de 0,48-9,56 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFC.	94
Cuadro 75.	Prueba de Kruskal-Wallis de porcentaje de Cr VI retenido en función del Cr VI suministrado, para el rango de 19,12-95,60 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFC.	95
Cuadro 76.	Prueba de U de Mann-Whitney de porcentaje de Cr VI retenido en función del nivel de Cr VI suministrado, rango de 19,12-95,60 mgCr.kgFAF ⁻¹ en la FAFC.	96
Cuadro 77.	Valores encontrados para las dos FAF, en relación al día y a la concentración del Cr VI complejado.	97
Cuadro 78.	Prueba de Kruskal-Wallis de Cr VI retenido en función del uso, rango de 0.48-9.56 mgCr.kgFAF ⁻¹ .	99
Cuadro 79.	Prueba de Kruskal-Wallis de Cr VI retenido en función del uso, rango de 19.12-95.60 mgCr.kgFAF ⁻¹ .	99
Cuadro 80.	Prueba de U de Mann-Whitney de Cr VI retenido en función del uso, para el rango de 19.12-95.60 mgCr.kgFAF ⁻¹ .	99
Cuadro 81.	Análisis de medias de Cr VI retenido en función del uso, para el rango de 19.12-95.60 mgCr.kgFAF ⁻¹ .	99
Cuadro 82.	Valores de Mg, Ca, Fe y Al en las FAF de los dos usos, sin suministro de Cr VI y con Cr VI suministrado.	100
Cuadro 83.	Valores obtenidos de Cr VI en los dos usos en términos de meq/100g.	101
Cuadro 84.	Correlación entre la cantidad de Cr VI retenido y las cantidades de Mg, Ca, Fe y Al, presentes en las FAF.	101
Cuadro 85.	Correlación entre el Cr VI retenido en la MOH y las propiedades de esta.	103
Cuadro 86.	Prueba de normalidad Shapiro-Wilk para la estandarización de Cr VI soluble por UV-Vis en función del día.	112
Cuadro 87.	Prueba de normalidad Shapiro-Wilk para la estandarización de Cr VI soluble por UV-Vis en función del nivel de concentración.	112
Cuadro 88.	Prueba de normalidad Shapiro-Wilk para la estandarización de Cr total por EAA en función del nivel de concentración.	112
Cuadro 89.	Prueba de normalidad Shapiro-Wilk para la estandarización de Cr total por EAA en función del día.	112
Cuadro 90.	Prueba de normalidad del Cr VI real en función del Cr VI suministrado en la FAFB.	113
Cuadro 91.	Prueba de normalidad del Cr VI real en función del Cr VI suministrado en la FAFC.	113
Cuadro 92.	Prueba de normalidad Shapiro-Wilk de Cr VI retenido en función del día en la FAFB.	113
Cuadro 93.	Prueba de normalidad Shapiro-Wilk de porcentaje de Cr VI retenido en función del día, en la FAFB.	114

Cuadro 94.	Prueba de normalidad Shapiro-Wilk de Cr VI retenido en función del día en la FAFC.	114
Cuadro 95.	Prueba de normalidad Shapiro-Wilk de porcentaje de Cr VI retenido en función del día en la FAFC.	114
Cuadro 96.	Prueba de normalidad Kolmogorov-Smirnov entre el cromo retenido en función del uso.	114
Cuadro 97.	Prueba de normalidad Kolmogorov-Smirnov de porcentaje de Cr VI retenido en función del uso.	114
Cuadro 98.	Valores de la cantidad de Cr VI retenido en la FAFB y algunas propiedades de la MOH.	115
Cuadro 99.	Valores de la cantidad de Cr VI retenido en la FAFC y algunas propiedades de la MOH.	117

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Andisoles (vereda santa Teresa, Departamento del Cauca).	23
Figura 2. Teoría de la formación de SH a partir de la lignina según Waksman.	27
Figura 3. Rutas de formación de humus propuestas por Stevenson basadas en la formación de quinonas.	27
Figura 4. Estructuras hipotéticas de AF, propuestas por Schnitzer y Khan (a), Bergmann (b), Buffle (c), Manahan (d) y Bersbo (e).	29
Figura 5. Especiación de Cr (VI) en función del pH (fuerza iónica $\approx 0.01M$ y $[Cr(VI)] = 1.0mg.L^{-1}$).	37
Figura 6. Localización de la subcuenca río Las Piedras.	39
Figura 7. Método granulométrico para el fraccionamiento de la materia orgánica.	40
Figura 8. Extracción Secuencial de las Sustancias Húmicas.	41
Figura 9. Floculación de las arcillas.	42
Figura 10. Separación de los ácidos húmicos y fúlvicos.	43
Figura 11. Curva de barrido para la estandarización de Cr VI soluble por UV-Vis.	49
Figura 12. Curva de calibración de Cr VI bajo condiciones de precisión intermedia del método de determinación de Cr VI por UV-Vis.	52
Figura 13. Curva de calibración de Cr VI bajo condiciones de repetibilidad del método de determinación de Cr VI por UV-Vis.	55
Figura 14. Absorbancia de cromo total en función del nivel de concentración bajo condiciones de precisión intermedia del método de determinación de Cr total por EAA.	60
Figura 15. Curvas de Cr VI bajo condiciones de repetibilidad del método de determinación de Cr total por EAA.	63
Figura 16. Curva de calibración con patrón de titrisol.	64
Figura 17. Grupos donadores de electrones en los AF (Bases de Lewis).	70
Figura 18. Retención de Cr VI en la FAFB en función del día.	72
Figura 19. Retención de Cr VI en la FAFB en función del día entre 0.49-19,49 mgCr.kgFAF ⁻¹ .	72
Figura 20. Retención de Cr VI en la FAFB en función del día entre 38,99-97,47 mgCr.kgFAF ⁻¹ .	73
Figura 21. Retención de Cr VI en FAFB en función del Cr VI suministrado entre 0.49-19,49 mgCr.kgFAF ⁻¹ .	75
Figura 22. Retención de Cr VI en la FAFB en función del Cr VI suministrado entre 38,99-97,47 mgCr.kgFAF ⁻¹ .	77
Figura 23. Porcentaje de Cr VI retenido en la FAFB en función del día entre 0,49-9,75 mgCr.KgFAF ⁻¹ .	79
Figura 24. Porcentaje de Cr VI retenido en la FAFB en función del día entre 19,49-97,47mgCr.KgFAF ⁻¹ .	79

Figura 25.	Porcentaje de Cr VI retenido en la FAFB en función del Cr VI suministrado, rango 0,49-9,75 mgCr.kgFAF ⁻¹ .	81
Figura 26.	Porcentaje de Cr VI retenido en la FAFB en función del Cr VI suministrado entre 19,49-97,47mgCr.kgFAF ⁻¹ .	82
Figura 27.	Retención de Cr VI en la FAFC en función del día.	84
Figura 28.	Retención de Cr VI en la FAFC en función del día entre 0,48-9,56 mgCr.kgFAF ⁻¹ .	85
Figura 29.	Retención de Cr VI en la FAFC en función del día entre 19,12-95,60 mgCr.kgFAF ⁻¹ .	85
Figura 30.	Retención de Cr VI en la FAFC en función del Cr VI suministrado entre 0,48-9,56 mgCr.kgFAF ⁻¹ .	87
Figura 31.	Retención de Cr VI en la FAFC en función del Cr VI suministrado entre 19,12-95,60 mgCr.kgFAF ⁻¹ .	89
Figura 32.	Porcentaje de Cr VI retenido en la FAFC en función del día entre 0,48-9,56 mgCr.kgFAF ⁻¹ .	91
Figura 33.	Porcentaje de Cr VI retenido en la FAFC en función del día rango: 19,12-95,60 mgCr.kgFAF ⁻¹ .	92
Figura 34.	Porcentaje de Cr VI retenido en la FAFC en función del nivel de Cr VI suministrado, entre 0,48-9,56 mgCr.kgFAF ⁻¹ .	94
Figura 35.	Porcentaje de Cr VI retenido en la FAFC en función del nivel de Cr VI suministrado, entre 19,12-95,60 mgCr.kgFAF ⁻¹ .	95
Figura 36.	Efecto del cambio de uso de suelo en la retención de Cr en la Fracción de AF en función del día, en el rango de 0.48-9.56 mgCr.kgFAF ⁻¹ .	98
Figura 37.	Efecto del cambio de uso de suelo en la retención de Cr en la Fracción de AF en función del día, en el rango de 19.12-95.60 mgCr.kgFAF ⁻¹ .	98
Figura 38.	Radio iónico de los metales presentes.	100
Figura 39.	Complejo órgano-mineral y sitios en donde puede ser quelatado el Cr VI.	101
Figura 40.	Fracción arcillosa y sitios donde puede ser retenido el Cr VI por sustitución isomórfica.	102
Figura 41.	Interacción de un metal con los diferentes componentes del suelo.	104

LISTA DE ANEXOS

	pág.
ANEXO A. Cuadros implementación de las metodologías	112
ANEXO B. Cuadros resultados de la retención de Cr VI en los AF	113
ANEXO C. Cuadros propiedades físicas y químicas de la MOH	115

LISTA DE ACRÓNIMOS

AF	Ácidos fúlvicos
AH	Ácidos húmicos
C	Carbono
CIC	Capacidad de intercambio catiónico
Corg	Carbono orgánico
COS	Carbono orgánico del suelo
Cr	Cromo
Cr VI	Cromo hexavalente
DFC	Difenil-carbazida
FAF	Fracción de ácido fúlvico
FAFB	Fracción de ácido fúlvico de bosque
FAFC	Fracción de ácido fúlvico de cultivo
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
MO	Materia orgánica
MOH	Materia orgánica humificada
MOF	Materia orgánica fresca, no humificada
MOS	Materia orgánica del suelo
CIA	Capacidad de Intercambio aniónico
EAA	Espectroscopia de absorción atómica

RESUMEN

El estudio se realizó en la fracción de ácidos fúlvicos (FAF) provenientes de suelos altoandinos *Typic Hapludands* de la microcuenca Santa Teresa, Subcuenca Rio Las Piedras, para valorar la influencia del cambio de uso de suelo de bosque a cultivo en el proceso de retención de Cr (VI).

En primera instancia se estandarizaron las metodologías necesarias para la determinación de Cr: el método colorimétrico de la difenilcarbazida (DFC) para medir el Cr VI y el método Espectrofotométrico de absorción atómica de llama (EAA) para determinar el Cr total. Posteriormente se evaluó la capacidad de los ácidos fúlvicos de retener Cromo(VI), a partir de diferentes dosis suministradas en forma de dicromato de potasio, para ellos se utilizó el método en paralelo incubando a temperatura ambiente las soluciones de ácidos fúlvicos dopadas con diferentes concentraciones de Cr durante tres días diferentes (día cero, día 3 y día cinco). En cada día se determinó la cantidad de Cr retenida por la diferencia entre la cantidad total de Cr suministrado (determinada mediante EAA) y la cantidad de Cr no retenido (determinada en forma colorimétrica). Además se determinaron las concentraciones de Al, Fe, Mg y Ca presentes en los ácidos fúlvicos para saber su efecto en la complejación del Cr VI y finalmente se evaluó el efecto de las propiedades químicas de la materia orgánica humificada (MOH) en la retención del Cr por los ácidos fúlvicos.

La fracción ácido fúlvico de bosque (FAFB) presenta 100% de retención a dosis inferiores a $19.49 \text{ mgCr.kgFAF}^{-1}$ desde el día cero, mientras que en las dosis superiores la cantidad de Cr (VI) retenido incrementan con el tiempo de incubación, lográndose la mayor retención en el día 5. El incremento en la dosis suministrada aumenta la cantidad de Cr VI retenido alcanzando un punto de saturación de $58.48 \text{ mgCr.kgFAF}^{-1}$. En la fracción de ácidos fúlvicos de cultivo (FAFC), el 100% de retención se encontró a dosis inferiores a $9.56 \text{ mgCr.kgFAF}^{-1}$ a partir del día cero, contrario a las dosis superiores donde el Cr VI retenido incrementa con el tiempo de incubación, logrando la mayor retención en el día 5. También se encontró un punto de saturación a partir de la dosis de $38.24 \text{ mgCr.kgFAF}^{-1}$. El cambio de uso de bosque a cultivo, disminuye la cantidad de Cr VI retenido en las fracciones de ácido fúlvicos, a partir de dosis superiores a $19.12 \text{ mgCr.kgFAF}^{-1}$.

La presencia de iones Fe y Al en los ácidos fúlvicos, propiedades de la MOH como acidez intercambiable, aluminio intercambiable y el C orgánico contribuyen a la retención de Cr, mientras que iones Ca y Mg, pH y la capacidad de intercambio catiónico (CIC), afectan negativamente la retención de Cr en ambos usos.

Con relación a los resultados obtenidos, los ácidos fúlvicos de suelos altoandinos de la microcuenca Santa Teresa contribuyen a la mitigación de contaminación de Cr VI, aun cuando el tiempo y la dosis suministrada son factores que se deben tener en cuenta si se quieren emplear las fracciones de ácidos fúlvicos como método remediador, a la vez, el cambio de uso de bosque a cultivo disminuye la capacidad de mitigación.

1. INTRODUCCIÓN

La descarga de metales pesados tóxicos en el medio ambiente es un grave problema de contaminación, afecta la calidad del agua, suelo y toda forma de vida. Un contaminante común es el Cromo, ampliamente utilizado en galvanoplastia, curtido de cuero, fabricación de productos químicos, aparatos electrónicos, protección contra la corrosión, minería, entre otras. En ambientes naturales, los estados de oxidación más estables del Cromo son Cr (III) y (VI). Estas formas difieren considerablemente en su comportamiento, impacto ambiental y riesgos para la salud humana. Los compuestos de Cromo (VI) son tóxicos, agentes carcinógenos, móviles en los sistemas suelo/agua, mucho más que los compuestos de Cromo (III). El Cromo (VI) es un oxidante fuerte y muy soluble en sus formas aniónicas, mientras que compuestos de Cromo (III) tienden a formar precipitados inertes a pH neutro. Estas características físicas y químicas son la causa de la diferente biodisponibilidad y toxicidad entre ellos. El Cr puede llegar al suelo por diferentes vías naturales por meteorización de rocas sedimentarias, o antropogénicas debido a la aplicación de fertilizantes orgánicos ricos en fosforita y percolar hacia horizontes más profundos llegando a contaminar aguas subterráneas y superficiales. Sin embargo, las sustancias húmicas constituidas por ácidos húmicos, huminas y ácidos fúlvicos (AF) juegan un papel muy importante en su retención y/o movilidad.

Los AF son sustancias químicas naturales polifuncionales muy complejas, solubles en agua, en cualquier rango de pH, moléculas poco polimerizadas con grandes cantidades de grupos carboxílicos, hidróxidos, aminas, anillos aromáticos y cadenas laterales alifáticas de gran longitud. Estos grupos les proporcionan carácter ácido y elevada capacidad de retener metales, de esta forma, su labor principal en el medio ambiente es la de complejar y remover metales.

Varios métodos de tratamiento se han desarrollado para eliminar el Cromo de diferentes fases ambientales. Los métodos comunes incluyen precipitación química, intercambio de iones, separación por membrana, ultrafiltración, flotación, electrocoagulación, extracción con disolventes, sedimentación, precipitación electroquímica, fitorremediación, reducción, adsorción/filtración, floculación y quelación. Sin embargo, la mayoría de ellos no son económicamente atractivos debido a altos costos de operación, por lo cual es de gran interés, determinar métodos de bajo costo para remover dicho metal. No existen normas en Colombia que indiquen el límite permitido de Cr (VI) en suelos o aguas, pero a nivel internacional si se establecen estos límites.

Con base en estas consideraciones, se evaluó el aporte de los AF obtenidos de muestras de suelos provenientes de suelos Altoandinos de la Microcuenca Santa Teresa en la retención de Cromo VI.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los ecosistemas Altoandinos ubicados entre 2800 y 3200 m.s.n.m. pertenecientes a la microcuenca Santa Teresa, subcuenca del río Las Piedras, corresponden a bosques nublados productores de agua. Sin embargo, por razones de seguridad alimentaria, y por falta de productividad de sus suelos, en esta zona se está expandiendo la frontera agrícola y de pastoreo, con manejo agronómico y aplicación de agroquímicos, en muchos de los cuales se ha detectado presencia de metales pesados Cr, Cd, Zn, y Mn. Estas prácticas agrícolas cambian el hábitat natural, afectando su biodiversidad y por ende los ciclos biogeoquímicos del Carbono y nutrientes, posibilitando la contaminación de diferentes fases ambientales, principalmente suelos y aguas superficiales como la del río Piedras, fuente de agua para el acueducto de Popayán.

Si el suelo supera la capacidad de amortiguamiento en la contaminación de metales pesados, ellos pasarán a contaminar los cuerpos de agua con graves consecuencias para la salud de todos los moradores. Los ácidos fúlvicos, componente importante de la materia orgánica del suelo (MOS), con su estructura simple y su pequeño tamaño (2 Å) entran fácilmente en los intersticios de la red cristalina del suelo, movilizándolo metales con los que se ligan. Sus sales o fulvatos, son muy móviles y completamente hidrosolubles, percolan con facilidad en el suelo, lixiviándolo, empobreciéndolo, causándole acidez y pueden contaminar los reservorios de aguas donde lleguen sus lixiviados con metales contaminantes o peligrosos. Pero además esta fracción de la materia orgánica puede complejar fuertemente los metales impidiendo su disponibilidad y contribuyendo a mitigar la contaminación por metales como el Cr. No existen metodologías económicas y de fácil desarrollo debidamente implementadas en nuestro departamento que permitan evaluar Cr (VI) y Cr total en diferentes matrices, por esto el acceso a su evaluación es difícil.

Con este proyecto se propone evaluar la capacidad de las fracciones de ácidos fúlvicos provenientes de suelos Altoandinos de la Microcuenca Santa Teresa con sistemas de bosque y cultivo en la retención de Cromo hexavalente soluble y total con el propósito de determinar si contribuyen en la mitigación de la contaminación con dicho metal.

Hipótesis de trabajo: Los Ácidos Fúlvicos provenientes de suelos Altoandinos de la Microcuenca Santa Teresa son capaces de complejar Cr VI impidiendo su disponibilidad, pero dicha capacidad puede alterarse por el cambio de uso de suelo.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la capacidad de la fracción fúlvica proveniente de suelos Altoandinos de la Microcuenca Santa Teresa en la retención de Cr (VI), utilizando métodos colorimétrico (UV-Vis) y espectrofotométrico (EAA).

3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Extraer la fracción fúlvica de suelos altoandinos Typic Hapludands con sistemas de bosque y cultivo.
- Implementar y evaluar el método espectrofotométrico (colorimétrico) para la determinación de Cromo hexavalente soluble con difenilcarbazida (DFC).
- Estandarizar el método para la determinación de cromo total por espectroscopia de absorción atómica de llama.
- Determinar la retención y liberación de Cromo hexavalente por la fracción fúlvica, empleando el método de la DFC, corroborando la retención por absorción atómica de llama.
- Evaluar la influencia del uso de suelo en la retención de Cromo hexavalente por la fracción fúlvica en suelo Altoandinos.

4. ESTADO DEL ARTE Y MARCO TEÓRICO

4.1. SUELOS ALTOANDINOS

Los ecosistemas altoandinos se encuentran entre 2.900 y 3.800 metros de altitud y se distinguen por su amplia diversidad biológica. Se caracterizan por la gran cantidad de árboles y arbustos entre 3 y 8 mt de alto, son representativos de esta categoría los robledales y los bosques de niebla, la gran mayoría ubicados en áreas relictuales en las cuencas Sinú-Caribe, Caquetá, Meta, Patía, río Catatumbo, alto y medio Magdalena, medio Cauca, río Atrato y Sabana de Bogotá (Ministerio del medio ambiente, 2013).

Tienen un ambiente supremamente húmedo que se aprecia a la distancia como el característico manto de nubes que envuelve las cumbres de las montañas. El exceso de humedad permite que sobre las ramas de los árboles crezca una abundante variedad de epífitas como quiches, orquídeas, musgos y líquenes que los cubren por completo. Esta selva andina o bosque de alta montaña, cumple funciones específicas como son la regulación del flujo hídrico que desciende de los páramos y la acumulación y administración de sus nutrientes. Por esto crecen árboles hasta de 15-20 metros de alto que resguardan y alimentan una amplia y muy importante variedad de especies animales y vegetales (Ministerio del medio ambiente-Parques Nacionales, 2013).

Los suelos Altoandinos presentan diferentes beneficios ambientales: belleza de sus paisajes, abundancia y colorido de su vegetación, espacios ideales para el ecoturismo. Su biodiversidad es una reserva genética para la seguridad alimentaria, y el descubrimiento de nuevas especies promisorias o útiles para la industria y la farmacia. La cobertura boscosa de las laderas andinas protege contra la erosión y previene deslizamientos de tierra (Castaño, 2002).

Estudios muestran que las grandes transformaciones que han sufrido estos ecosistemas se deben a la tala para el establecimiento de pastos para ganadería o para otro uso de la tierra (Cristal, 2002) como el cultivo de papa, el uso en canteras y de vivienda. Además se mantiene una marcada tendencia a la degradación y contaminación de los suelos con el uso intensivo de productos agroquímicos, fertilizantes, plaguicidas y el riego, que lleva a la pérdida de nutrientes y la degradación del suelo producto de la deforestación. Actualmente se están viendo afectadas las zonas de páramo para la extracción y explotación minera de recursos; obviando su valor como ecosistema regional estratégico para preservar los servicios ambientales, la biodiversidad y el equilibrio ambiental para las comunidades del entorno.

En el Municipio de Totoró se presentan procesos de erosión ligera, evidenciados por el fenómeno de reptación (pata de vaca), sobrepastoreo y cultivos limpios con la utilización de agentes químicos, maquinaria pesada, que impiden el crecimiento de

vegetación asociada y unidos a otros agentes están incrementando la pérdida suelo por escorrentía superficial (C.R.C, 2002).

4.2 ANDISOLES

Los Andisoles son suelos con propiedades que dependen principalmente de la presencia de cantidades significativas de los materiales; alófanos, ferrihidrita, o complejos aluminio-humus en los suelos y se desarrollan a partir de una amplia gama de depósitos de cenizas volcánicas (Figura 1).

Figura 1. Andisoles (vereda santa Teresa, Departamento del Cauca)



Fuente: Arboleda y Martínez, (2012)

Los suelos que presentan propiedades ándicas deben contener menos del 25% de carbono orgánico, además de un alto porcentaje de Al y Fe total, una densidad igual o menor a 0.9 g/cm^3 , un 85% o más de retención de fosfato. Estos suelos presentan estructuras bien definidas, alto porcentaje de retención de humedad, baja densidad aparente, pH ácido, baja relación $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$, alta capacidad de intercambio catiónico dependiente del pH, bajo porcentaje de saturación de cationes intercambiables. Además presentan altos contenidos de MO en diferentes grados de humificación, en directa relación con la pluviometría y temperatura propia de cada zona (Malagón y Pulido, 1996).

Estos suelos, principalmente constan de un horizonte A que varía de pardo oscuro a negro, con aproximadamente 30 cm de espesor, estructura grumosa y granular fina, con un contenido de materiales orgánicos hasta del 30 % en los miembros más oscuros del grupo. Estos altos contenidos de MO le confieren alta capacidad de retención de metales y el efecto va a depender de su calidad.

4.3. MATERIA ORGÁNICA DEL SUELO

La totalidad de la materia orgánica del suelo se puede reunir fundamentalmente en dos grupos (Stevenson, J., 1982; Kononova, 1982). Según el primero, está formado por restos orgánicos; los cuales son aquellos materiales identificables como las partes totales o parcialmente alteradas de la biomasa (plantas, animales y microorganismos); representa los grupos de descomposición o los productos de la actividad vital (metabolismo y resíntesis) de la población viva. Lo característico de estos compuestos es que son identificables por la química orgánica (proteínas y aminoácidos, hidratos de carbono simples y compuestos, resinas, grasas, ligninas y otros). Las sustancias de este grupo se consideran como fuentes de nutrientes para las plantas y los organismos del suelo. Igualmente, se les atribuyen actividades estimulantes e inhibitoras de crecimiento de las plantas, como antibióticos y vitaminas. La producción de CO₂ del suelo, respiración, está asociada a su utilización como sustrato por los microorganismos del suelo.

Al segundo grupo componente de la materia orgánica del suelo se les llama sustancias húmicas. Su formación se realiza por procesos de transformación de los restos vegetales y animales del primer grupo. El término es aplicado a compuestos que se forman en el suelo, por procesos no mediados por la vida (Kumada, 1987). Estos procesos son llamados humificación y producen una mezcla de sustancias que tienen una alta resistencia al posterior ataque microbiano y son completamente diferentes, en composición química, a cualquier sustancia vegetal o animal que les dio origen. Este componente, de color negro oscuro, de la fase sólida del suelo juega un papel significativo en la formación y estabilización de los agregados, en el control de la acidez, en el reciclaje de elementos nutritivos, en la desintoxicación de compuestos peligrosos que llegan al suelo y en la fertilidad de este.

La MOS es un indicador clave de la calidad del suelo, tanto en sus funciones agrícolas (p. ej. producción y economía) como ambientales, entre ellas captura de carbono y calidad del aire. Es la principal determinante de la actividad biológica del suelo. La cantidad, diversidad y actividad de la fauna y de los microorganismos están directamente relacionadas con la materia orgánica y tienen gran influencia sobre las propiedades químicas y físicas de los suelos (Jenkinson y Ladd, 2001; Robert, 2002).

4.3.1 Composición de la materia orgánica

Químicamente, la MOS se compone de una fracción de materia orgánica fresca (MOF) y materia orgánica humificada (MOH), siendo esta última el componente más importante debido a sus propiedades.

4.3.1.1 Las Sustancias Húmicas

Las sustancias húmicas son una mezcla de compuestos que no son sintetizados directamente en los procesos bioquímicos que suceden en el suelo, aunque ellos

tienen una acción inicial importante. Más específicamente, las sustancias húmicas son compuestos poliméricos formados a partir de los compuestos producidos por acción microbiana y que difieren de estos biopolímeros por su estructura molecular y su larga resistencia en el tiempo (Zapata, 2006). La definición de sustancias húmicas no implica un grupo particular de compuestos orgánicos, de relativa masa molecular o reactividad química. Es esencialmente un grupo muy disímil de compuestos orgánicos de naturaleza refractaria o recalcitrante (Stevenson, J., 1982). Actualmente se consideran como asociaciones supramoleculares de compuestos con masas molares relativamente bajas, que se estabilizan por interacciones hidrofóbicas y puentes de hidrógeno, llegando a formar micelas (Piccolo, 2001; Colombo *et al*, 2007)

4.3.1.1.1 Los Ácidos Húmicos

En estos se encuentran englobadas las materias que se extraen del suelo por disolventes (NaOH, KOH, NH₄OH, Na₂HCO₃, Na₄P₂O₇, NaF, oxalato sódico, urea, y otros), y que al acidificar con ácidos minerales, se precipitan de las soluciones obtenidas en forma de un gel oscuro (Kononova, 1982). A pesar de la diversidad de los ácidos húmicos de distintos suelos, turbas, restos vegetales en descomposición, conservan unos principios de estructura muy semejantes, pero tienen una naturaleza muy particular y muy distinta a la de cualquier sustancia vegetal. Los grupos funcionales característicos de los ácidos húmicos son los carboxilos e hidroxilos fenólicos, cuyo hidrógeno es susceptible a las reacciones de sustitución.

4.3.1.1.2 Las Huminas

Se consideran como la fracción más estable, que no puede extraerse con los disolventes clásicos. Son moléculas con un alto peso molecular y están implicadas en el complejo arcillo-húmico y órgano-metálico (Stevenson, 1982). En estas moléculas se encuentran todavía fragmentos de lignina no modificados y polisacáridos provenientes de las plantas, esta humina representa alrededor del 50 % del carbono total de los suelos. En el suelo se encuentran en diferentes estados: “humina microbiana”, formada por metabolitos microbianos y compuestos alifáticos derivados de ellos, “humina heredada”, próxima a la materia orgánica fresca, constituyente de las membranas, “humina no formada”, resultado de procesos de inmovilización por los cationes y no es extraíble por reactivos alcalinos, y finalmente “humina estabilizada”, resultante de la evolución lenta de los ácidos húmicos que provoca la polimerización de los núcleos aromáticos y un descenso de su solubilidad ante los reactivos de extracción (Stevenson, F. 1985; Breemen y Buurman, 2002).

4.3.1.1.3 Ácidos fúlvicos

Fueron llamados en la primera mitad del siglo XIX por Berzelius como la mezcla de ácidos crénico y apocrénico. Los fulvoácidos, poseen en esencia unidades estructurales similares a las de los ácidos húmicos, se caracterizan por la presencia

de una fracción nuclear poco pronunciada (rejillas aromáticas del carbono) con predominio de cadenas laterales lo cual da fundamento para considerarlos como los representantes menos "maduros" del grupo de los ácidos húmicos.

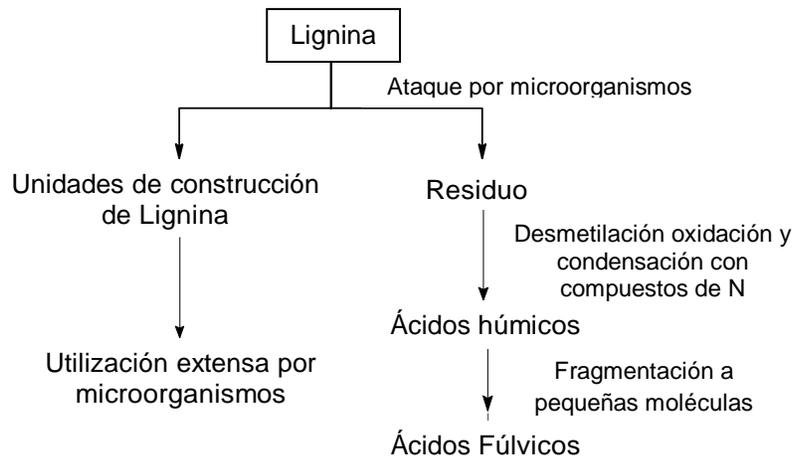
Pertenece al grupo de los ácidos hidroxicarboxílicos, y en la hidrólisis ácida forman sustancias reductoras y furfural. Los fulvoácidos tienen alta capacidad de cambio (hasta 700 meq por 100g de sustancia). Actúan destructivamente sobre los minerales; son propensos a formar compuestos complejos que poseen gran movilidad. La baja "aromatización" de los fulvoácidos se evidencia en los datos de la composición elemental, en la que el porcentaje de carbono es significativamente más bajo y el de hidrógeno supera el de los Ácidos Húmicos. Como regla general hay más C y menos O en el ácido húmico que en el fúlvico. Esto lleva al ácido fúlvico a tener mayor cantidad de grupos ácidos con una mayor capacidad de complejación, y al ser soluble a todo pH, actúa significativamente en la movilidad de cationes metálicos en el suelo. Por lo anterior se les asocia a los procesos de podzolización (Zapata, 2006).

Son muy ricos en polisacáridos y en aniones minerales como fosfatos. Su elevado contenido en cargas aniónicas les confiere una gran facilidad para formar complejos estables con cationes polivalentes (Fe^{3+} , Al^{3+} , Cu^{2+} , etc.). Los AF son menos condensados, tienen menor tamaño y peso molecular; así mismo son más jóvenes, más reactivos y más móviles (Piccolo, 2001), al igual que los AH, contienen nitrógeno.

4.3.1.1.3.1 Formación, composición y estructura de los Ácidos Fúlvicos

La formación de las SH es uno de los aspectos de la química del humus menos esclarecidos y más intrigantes, aunque continuamente se está investigando. Por varios años se han propuesto varias rutas por las cuales se forman las SH a partir del ciclo del carbono y los cambios que ocurren por el decaimiento natural de plantas y animales que yacen en el suelo y son descompuestos por microorganismos (Melo, 2006). Sin embargo, solo dos de los mecanismos propuestos especifican la formación de los AF. La teoría popularizada por Waksman (1932), citado por Stevenson (1982) fue que las SH son el producto de modificaciones hechas a estructuras de lignina (Figura 2). De acuerdo con esta teoría, se considera que la lignina es utilizada de forma incompleta por microorganismos, generando con ello residuos que terminan siendo parte del humus del suelo. La modificación de la lignina involucra la pérdida de grupos metoxilo ($-\text{OCH}_3$) y la generación de o-hidroxifenoles, así como la oxidación de cadenas alifáticas laterales que generan grupos $-\text{COOH}$. El material modificado está sujeto a cambios futuros desconocidos que dan origen a los AH y a los AF (Melo, 2006). Se asume que las SH representan un sistema polimerizado, los productos iniciales deberían hacer parte de la humina. Una fragmentación y oxidación posterior, debería primero producir los AH y después a los AF (Zapata, 2006).

Figura 2. Teoría de la formación de SH a partir de la lignina según Waksman.



A pesar de que la teoría de la lignina es comúnmente considerada para explicar la formación de SH, hoy en día la mayoría de los investigadores consideran obsoleta la teoría de Waksman (1932), estos están a favor de las rutas propuestas por Stevenson, mismas que involucran quinonas; estas rutas se ilustran en las Figuras 3 a) y 3 b) (Zapata, 2006).

Figura 3. Rutas de formación de humus propuestas por Stevenson basadas en la formación de quinonas.

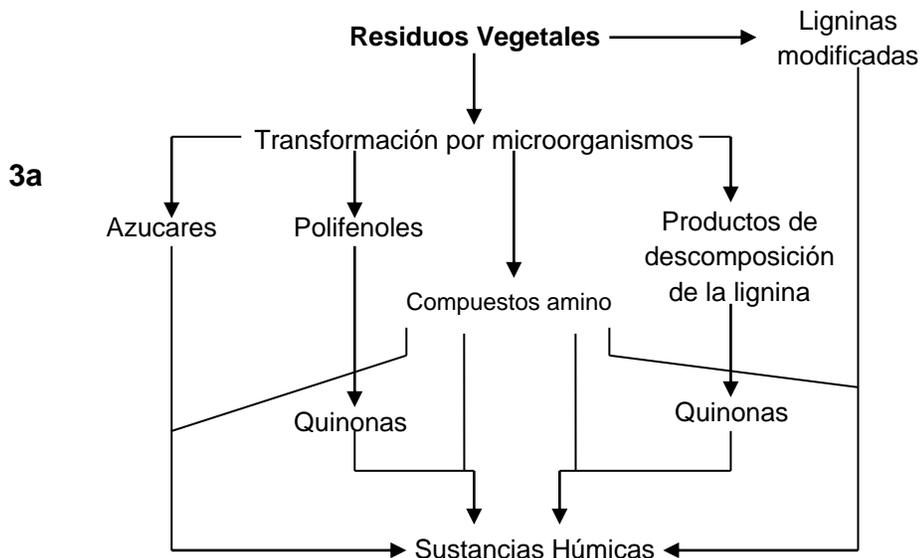
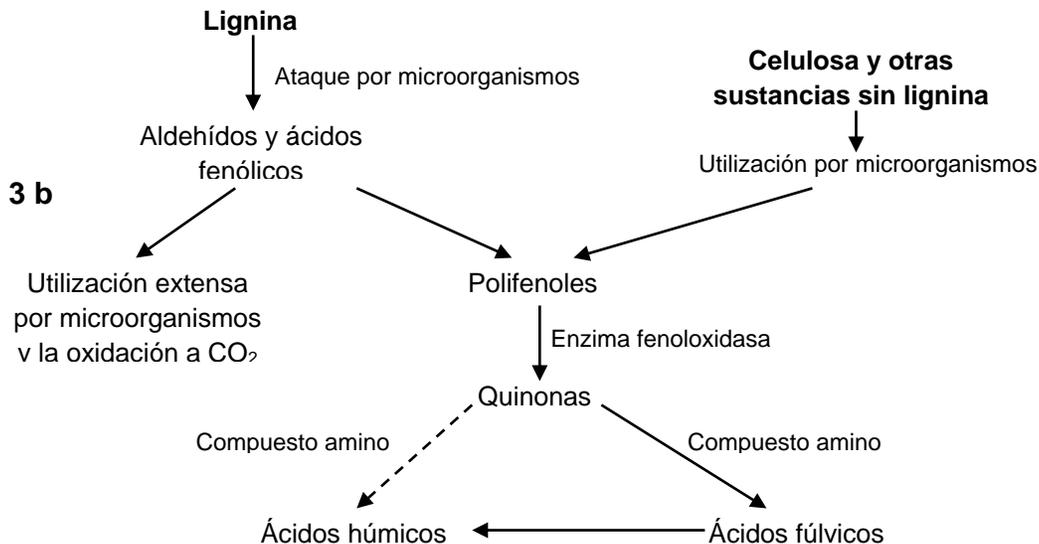


Figura 3 (Continuación).



La formación de AF no se contempla en la ruta (a), pero en la ruta (b), se muestra que durante la degradación microbiana de la lignina son liberados a partir los ácidos y aldehídos fenólicos y posteriormente transformados a polifenoles. Estos, sufren posteriormente una conversión enzimática a quinonas, las cuales polimerizan en presencia o ausencia de compuestos amino para formar moléculas de AH, o AF que consecutivamente se polimerizan para generar más AH (Melo, 2006).

En cuanto a la composición elemental de los AH y AF, los estudios realizados muestran que la mayoría de los elementos que los conforman son C, H, O, N y S, los cuales están presentes independientemente del origen de estos (Gajdošová, 2001; Kurková, 2004). Asimismo, los AF contienen una mayor cantidad de grupos funcionales en su estructura, particularmente grupos -COOH, es decir, la cantidad de grupos ácidos en los AF (5.2-11.2 mol/Kg) es considerablemente mayor que en los AH (1.5-6.0 mol/Kg). Otra diferencia importante es que en los AF la mayor parte el oxígeno se encuentra en diferentes grupos funcionales (-COOH, -OH, =C=O); mientras que en los AH el oxígeno forma parte del núcleo de su estructura. Según Stevenson (1982) y Sposito (1989) la composición elemental de estas sustancias húmicas se muestra en el cuadro 1.

Cuadro 1. Composición química promedio de los ácidos húmicos y fúlvicos (Stevenson, 1982; Sposito, 1989).

Acido	C	H	N	S	O	-COOH	OH-FENOL
	(g/Kg)					(mol/Kg)	
Húmico	530-570	30-65	8-55	1-15	320-385	1.5-6.0	2.1-5.7
Fúlvicos	407-506	38-70	9-33	1-36	390-500	5.2-11.2	0.3-5.7

Debido a que las SH no son de tamaño ni de composición homogénea, la caracterización de la estructura es el mayor problema que se presenta durante su estudio. Las estructuras propuestas hasta ahora tanto para AH como para AF, han surgido al relacionar su comportamiento con el de estructuras conocidas, así como de tomar en cuenta su posible origen. En la Figura 4 se muestran algunas de las estructuras propuestas para los AF.

Figura 4. Estructuras hipotéticas de AF, propuestas por Schnitzer y Khan (a), Bergmann (b), Buffle (c), Manahan (d) y Bersbo (e).

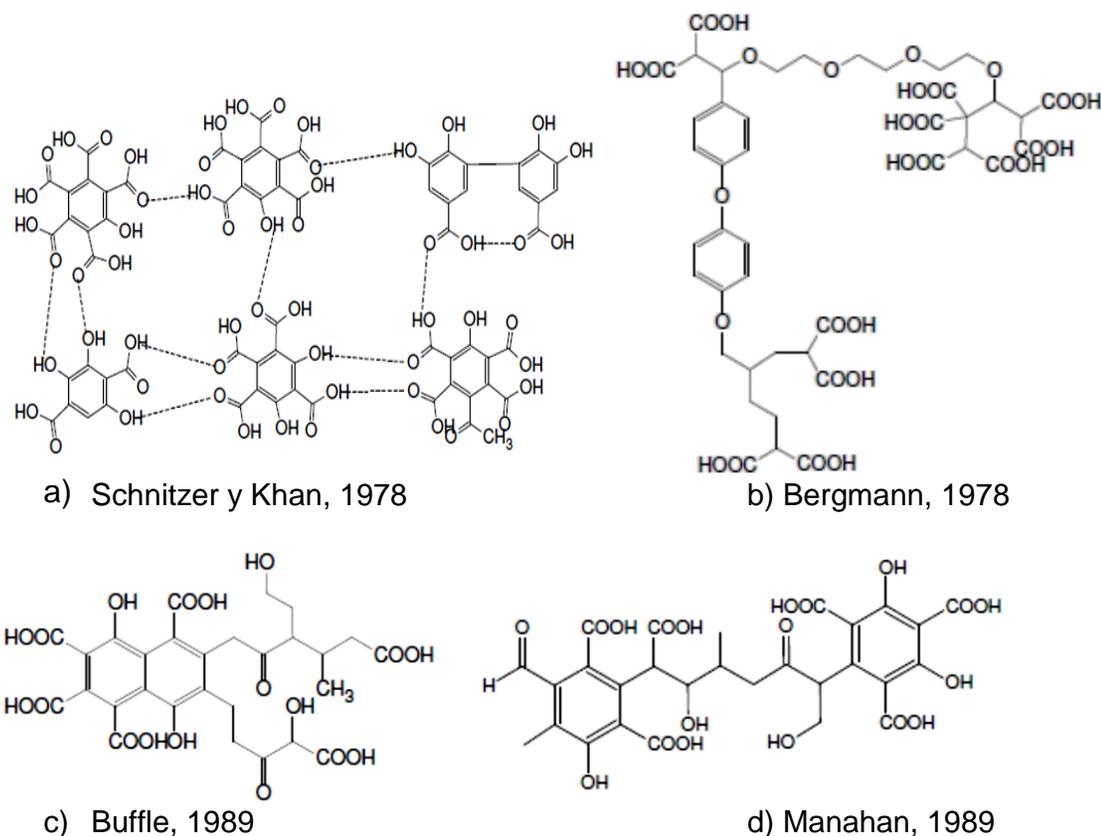
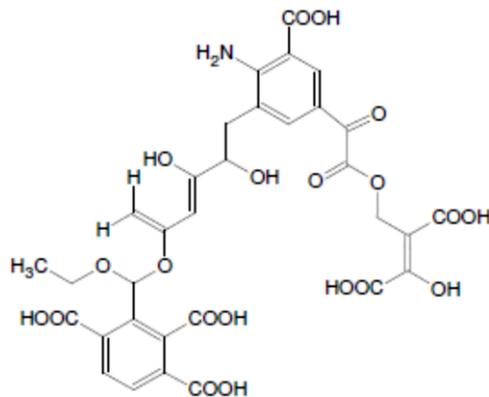


Figura 4. Continuación



e) Bersbo, 1973

Fuente: Citados por Melo, 2006.

Estas imágenes, que se presentan en la Figura 4 muestran que aunque las estructuras hipotéticas de los AF coinciden en que son moléculas pequeñas (comparadas con las propuestas para los AH), con muchos grupos funcionales, mayoritariamente grupos COOH, con pocos anillos en su estructura y uniones de los grupos funcionales mediante cadenas alifáticas, no se ha establecido una estructura concreta para los AF.

4.3.1.1.3.2 Interacción Ácido Fúlvico-metal

Los metales pesados son parte de la roca madre de la que está compuesto el suelo, estos pueden ser transportados hasta los mantos acuíferos, las fuentes de agua potable, así como a los sistemas marinos. Esto se debe a la movilidad de los metales en su forma iónica, o cuando se encuentran como complejos metálicos orgánicos (Essington, 2003). Concretamente, la materia orgánica en solución acuosa es capaz de complejar metales (Yufera, 1973) e incrementar su solubilidad, (Stevenson, 1982) alterar la distribución de la forma oxidada o reducida de los metales, (Schnitzer, 1972) reducir la toxicidad de los metales y alterar su biodisponibilidad hacia la vida acuática.

La presencia de los cationes metálicos en el suelo está asociada a las reacciones de complejación con la materia orgánica (Zapata, 2006). Mientras que los cationes mono y divalentes, Na, K, Ca y Mg interactúan con esta mediante reacciones de intercambio con los grupos carboxílicos ácidos (-COO—Na, 2R—COOCa). Los cationes Cu^{+2} , Zn^{+2} , Mn^{+2} , Fe^{+3} y otros son ácidos de Lewis que tienen un alto potencial de reaccionar con las moléculas orgánicas o bases de Lewis.

De acuerdo a Pearson (1963), las bases débiles, también llamadas ligandos, son moléculas grandes fácilmente polarizables y pueden ceder sus electrones para formar enlaces covalentes. Selectivamente se unen a ácidos Lewis débiles, que generalmente son iones metálicos de radio iónico grande y baja carga. Las bases fuertes tienden a ser moléculas pequeñas, no son fácilmente polarizables, forman pocos enlaces covalente y más enlaces iónicos, se unen a ácidos Lewis fuertes, los cuales son iones metálicos de radio iónico pequeño y alta carga. Una lista de ácidos y bases se presentan en el cuadro 2.

Cuadro 2. Clasificación de los ácidos y bases de Lewis de acuerdo al concepto de Pearson (1963)

TIPO	ACIDO	BASE
FUERTES	H ⁺ , Li ⁺ , Na ⁺ , K ⁺ , Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Sr ²⁺ , Ti ³⁺ , Cr ³⁺ , Fe ³⁺	NH ₃ , R-NH ₂ , OH ⁻ , R-COO ⁻ , NO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻ , PO ₄ ³⁻
LIMITE	Fe ²⁺ , Co ²⁺ , Ni ²⁺ , Cu ²⁺ , Zn ²⁺	C ₆ H ₆ NH ₂ , C ₅ H ₅ N, NO ₂ ⁻ , SO ₃ ²⁻
DEBIL	Cu ⁺ , Ag ⁺ , Cd ²⁺	CN ⁻ , CO, S ²⁻ , R-SH, R-S ⁻

En los AF las reacciones se dan gracias a los grupos funcionales que contienen en su estructura átomos de oxígeno que se unen con iones de metales alcalinotérreos (comúnmente Ca y Mg) y metales de transición (p.ej. Cu, Fe, Cd, Zn, V y Ni). Los cationes monovalentes como Na⁺ y K⁺ pueden formar enlaces electrostáticos débiles con un solo grupo funcional de los AF, mientras que los iones metálicos divalentes pueden complejarse con dos sitios aniónicos adyacentes formando con ello un quelato, que posee una unión mucho más fuerte que la formada con cationes monovalentes (Steinberg, 2003). Estos complejos o quelatos pueden salir del suelo por lavado, única vía como pueden salir estos cationes del suelo. La mayoría de ellos precipitan como óxidos u hidróxidos una vez liberados de los minerales primarios y no son disponibles para las plantas ni para los microorganismos. Igualmente, los cationes metálicos pueden ser inmovilizados por formas sólidas de la materia orgánica.

4.4. METALES PESADOS EN EL AMBIENTE

Son elementos con propiedades metálicas (conductibilidad, ductilidad, etc.), número atómico entre 63.6-207.9, y densidad mayor a 5 g/cm³. Los metales se han clasificado como esenciales (Na, K, Ca, Fe, Zn, Cu, Ni y Mn); micro contaminantes ambientales (As, Pb, Cd, Hg, Al, Ti, Sn y W) y elementos esenciales y simultáneamente micro contaminantes (Cr, Zn, Fe, Co, Mg y Ni) (Vildes *et al*, 2010). La cantidad de metales disponibles está asociada a características físicas y químicas del suelo que influyen drásticamente en el manejo de la contaminación (Sauve *et al*, 2000; Spain, 2003). Las principales fuentes de metales pesados son actividades naturales, como desgaste de cerros, volcanes, así como también actividades antropogénicas como la agricultura y

la industria minera que está catalogada como una de las actividades industriales más generadora de metales pesados.

4.4.1 Biodisponibilidad de metales pesados

En el suelo los metales se asocian con distintas fracciones: (1) en solución, iones de metal libre y complejos metálicos solubles, (2) adsorbida en los sitios de intercambio de los constituyentes inorgánicos del suelo, (3) ligada a la materia orgánica, (4) precipitados como óxidos, hidróxidos y carbonatos, y (5) residual en las estructuras de los minerales silicatados. La biodisponibilidad de los metales está relacionada con la movilidad en la solución del suelo, de tal forma que solamente los metales asociados con las fracciones 1 y 2 son disponibles para las plantas (Huecas *et al*, 2003).

4.4.1.1 Procesos del suelo involucrados en la biodisponibilidad de metales pesados

Los metales pesados tienen tendencia a formar asociaciones, con sustancias minerales (carbonatos, sulfatos) y en mayor grado con sustancias orgánicas, mediante fenómenos de intercambio iónico, adsorción/desorción, quelación y precipitación/disolución afectando la distribución de estos entre la solución y la fase sólida del suelo, siendo responsable de la movilidad y biodisponibilidad (Parra y Espinosa, 2007).

4.4.1.1.1 Intercambio catiónico

Se define como intercambio iónico a los procesos reversibles por los cuales las partículas sólidas del suelo adsorben iones de la fase acuosa liberando al mismo tiempo otros iones en cantidades equivalentes, estableciéndose un equilibrio entre ambas fases. El poder de intercambio catiónico depende del tipo de minerales de la arcilla, de la materia orgánica, de la valencia y del radio iónico hidratado del metal. A mayor tamaño y menor valencia, menos frecuentemente quedan retenidos. Respecto a los minerales de la arcilla, la retención es mínima para los minerales del grupo del caolín, baja para las illitas, alta para las esmectitas y máxima para las vermiculitas (Galán y Romero, 2008).

4.4.1.1.2 Adsorción específica

La adsorción específica es un fenómeno de alta afinidad involucrando mecanismos de intercambio entre el metal y el ligando de la superficie de los coloides por medio de enlaces covalentes o iónicos. Como consecuencia de la adsorción específica, los metales son removidos de la solución del suelo y retenidos de la superficie de los coloides formando moléculas estables, llamados complejos de esfera interna. Este mecanismo muchas veces no es reversible.

4.4.1.1.3 Precipitación

Los iones metálicos en la solución del suelo pueden precipitar con un agente químico, generalmente aniones como fosfatos, sulfatos o carbonatos. También pueden precipitar como hidróxidos al reaccionar con los iones de la solución. La precipitación de metales pesados está relacionada con suelos alcalinos y calcáreos con concentraciones relativamente altas de metales pesados, además a condiciones que favorezcan una baja solubilidad de estos metales o que existan pocos sitios de adsorción específica (Galán y Romero, 2008).

4.4.1.1.4 Complejación y quelación

La quelación ocurre cuando un ligando polidentado, generalmente una molécula orgánica grande ocupa dos o más sitios de coordinación alrededor de un ión metálico central. Dentro de los ligandos complejantes orgánicos se encuentran el ácido cítrico, oxálico y gálico, además de ácidos orgánicos más estructurados, como aquellos pertenecientes a la fracción húmica y fúlvica solubles. Los hidróxidos y el ión cloruro son considerados como los ligandos inorgánicos más importantes.

4.4.1.2 Factores del suelo relacionados con la biodisponibilidad

La movilidad de un metal depende no sólo de su especiación química, sino de una serie de parámetros del suelo tales como pH, materia orgánica, carbonatos, minerales de la arcilla, etc. Así, no todos los cationes de cambio están igualmente disponibles, sino que depende del mineral o minerales de los que están formando parte como complejo de cambio (Galán y Romero, 2008).

4.4.1.2.1 pH

El pH del suelo afecta la especiación metálica, solubilidad, adsorción e intercambio de iones en el suelo. Además afecta los procesos de ingreso del metal a las raíces de las plantas. En suelos ácidos se produce una competencia entre los iones H^+ con los cationes metálicos por los sitios de intercambio. La mayoría de los metales tienden a estar más disponibles a pH ácido porque son menos fuertemente adsorbidos, excepto As, Mo, Se y Cr, que son más móviles a pH alcalino (Galán y Romero, 2008).

4.4.1.2.2 Contenido de materia orgánica

Los grupos funcionales $-OH$, $-C=C-$, $-COOH$, $-SH$, $-NH$ presentes en la materia orgánica tienen alta afinidad por los iones metálicos como se mencionó anteriormente, y la capacidad de formar complejos órgano-metálicos. Esta capacidad para formar complejos depende principalmente del predominio de los compuestos más estables en las sustancias húmicas.

4.4.1.2.3 Contenido y tipo de arcillas

La mayor parte de las arcillas se caracterizan por tener cargas eléctricas principalmente negativas en su superficie. Estas cargas son responsables de la CIC del suelo, y son responsables de disminuir el movimiento de los cationes metálicos hacia la solución del suelo, retienen por un tiempo más prolongado los metales en el suelo y disminuyen su solubilidad y biodisponibilidad.

4.4.1.2.4 Potencial redox

El potencial de oxidación-reducción es responsable de que el metal se encuentre en estado oxidado o reducido. La condición redox afecta los metales presentes en la solución del suelo alterando su solubilidad, especialmente en suelos inundados en donde se favorece la reducción, como resultado de la poca aireación incrementando la biodisponibilidad de algunos metales como el Mn, Cd, Cu, Cr y Zn.

4.4.1.2.5 Óxidos de Hierro, Aluminio y Manganeseo

Juegan un importante papel en la retención de metales pesados y en su inmovilización. Se encuentran finamente diseminados en la masa de suelo por lo que son muy activos. Por su baja cristalinidad y pequeño tamaño de partícula, tienen una alta capacidad sorcitiva para metales divalentes, especialmente Cu y Pb, y en menor extensión Zn, Co, Cr, Mo, Ni y As. (Galán y Romero, 2008)

4.4.2 El cromo

El cromo puede existir en varias formas químicas, tiene números de oxidación II, III, IV, V y VI pero el Cr (II) es inestable y muy poco se sabe acerca de su hidrólisis. El Cr (III) es un ácido fuerte de Lewis, está en el suelo como hidróxidos de cromo o complejoado, e incluso adsorbido en la materia orgánica. Este es también un elemento esencial en el metabolismo de los mamíferos, e incluso es empleado en medicamentos como la insulina, que se utiliza para reducir los niveles de glucosa en la sangre y para el control de ciertos casos de diabetes y colesterol Anderson (1989), Mohan y Pittman (2006).

Por el contrario, se ha demostrado la toxicidad del Cr (VI) presente en aerosoles al dañar la piel y el sistema respiratorio, causando cáncer de pulmón, sin embargo los efectos tóxicos del Cr (VI) en el agua de consumo no están bien documentados. La exposición a Cr (VI) conduce a una variedad de problemas clínicos, por ejemplo, la inhalación y retención de Cr (VI) causa la perforación del tabique nasal, asma, bronquitis, neumonitis inflamación de la laringe y el hígado y el aumento de la incidencia del carcinoma broncogénico, la ingestión puede afectar a las funciones renal y hepática, el contacto con la piel puede causar daño o envenenamiento sistémico incluso quemaduras severas e interferencia con la curación de cortes o

raspaduras, Gad (1989); Lee *et al*, 1999. El límite máximo recomendado o aceptado en agua potable por la Agencia de Protección Ambiental (EPA) de EE.UU. es 100 µg/L. Esta forma de cromo, Cr (VI), se ha encontrado presente en las aguas residuales de la industria metalúrgica, galvanoplastia de acabados metálicos, materiales refractarios, cintas magnéticas, curtido de cuero, y de la producción o aplicación de pigmentos, debido a su uso como materia prima en cada uno de estos procesos industriales.

Los compuestos de cromo (VI) son más tóxicos que el Cr (III) debido a su alta solubilidad y movilidad en agua. Por otra parte, el cromo trivalente es insoluble y por lo tanto inmóvil en condiciones ambientales. Las formas más solubles, móviles y tóxicas de cromo hexavalente en los suelos son cromato y dicromato, cuya disponibilidad se ve afectada por el pH, así a pH bajo y altas concentraciones de cromo, predomina $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$, mientras que a un pH mayor que 6,5, el Cr (VI) se encuentra en la forma de CrO_4^{2-} (Mohan 2006). La forma hexavalente se reduce rápidamente a cromo trivalente en condiciones aerobias (Irwin *et al*, 1971).

Todos los estudios de especiación de iones en los suelos se han desarrollado asociados al hecho de que los suelos en equilibrio parcial con el oxígeno atmosférico contienen manganeso oxidado y especies reductoras. La oxidación de Cr (III) a Cr (VI) puede darse por diferentes agentes en el suelo, especialmente por el manganeso, mientras que las reacciones de reducción de Cr (VI) a Cr (III) principalmente por los compuestos de carbono (Sotelo, 2012). Estas reacciones son termodinámicamente espontáneas y tanto, la oxidación como la reducción pueden llevarse a cabo en un mismo suelo, Bartlett y James (1979).

Varios estudios han reportado que tanto el Cr (III) puede oxidarse a Cr (VI) como de que el Cr (VI) se reduzca a formas de Cr (III). Bartlett y James en 1979 fueron quienes reportaron inicialmente la posibilidad de la oxidación del cromo en el suelo, estos resultados fueron verificados por Amacher y Baker (1982) quienes estudiaron acerca de las cinéticas de la oxidación y de reducción del cromo. Finalmente cabe resaltar los estos estudios realizados por Richmond J. Bartlett en 1991 quienes encontraron que la oxidación de Cr (III) se facilita por los óxidos de manganeso presentes en el suelo.

4.4.2.1 El cromo en el ambiente

En la corteza terrestre el Cromo, se presenta con una composición media de 100 mg.kg⁻¹, siendo mucho más abundante en las rocas ígneas ultramáficas, como serpentinas (que puede llegar a 2980 mg.kg⁻¹) que en las rocas ígneas ácidas, y sedimentarias, como areniscas y calizas (11-35 mg.kg⁻¹). En los suelos los valores representativos pueden estar entre 80-20 mg.kg⁻¹, pero los contenidos van a variar mucho en función del material original del que proceda el suelo, por ejemplo los suelos desarrollados sobre serpentinas presentan rangos de 100-7000 mg.kg⁻¹ (Coleman (1988), Richard y Bourg (1991).

En los suelos el cromo está presente principalmente en la forma $[\text{Cr}(\text{OH})_3\text{aq}]$ o como Cr (III) adsorbido a los componentes del suelo. Esto controla su lixiviación hasta los cuerpos de agua y su toma por parte de las plantas. La forma dominante de Cr (III) depende fuertemente del pH, en suelos ácidos ($\text{pH}<4$) predomina como $\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ mientras que, a $\text{pH}<5,5$ predominan los productos de su hidrólisis, principalmente el $\text{Cr}(\text{OH})^{2+\text{aq}}$, Ritchie y Sposito (1995). Estas dos formas son fácilmente adsorbidas sobre las arcillas del suelo y su adsorción se intensifica por el incremento del pH, puesto que, se generan cargas negativas en la superficie de las arcillas (Sotelo, 2012). Los iones CrO_4^{2-} y HCrO_4^- son las formas más móviles de Cr (VI) en el suelo, siendo el HCrO_4^- la forma dominante en suelos ácidos con $\text{pH}<6$. Estas especies pueden ser tomadas por las plantas o fácilmente lixiviadas, a través del perfil del suelo, hasta los cuerpos de agua a tal punto de contaminarlas, Calder (1988); Handa (1988).

En el agua, y en los sistemas acuáticos, la toxicidad de los compuestos solubles del cromo varía según la temperatura, pH y dureza del agua, y según las especies de organismos que los pueblan. Los compuestos del cromo (VI) se disuelven con facilidad, pero en condiciones naturales y en presencia de materia orgánica oxidable, se reducen rápidamente a compuestos cromo (III) más estables y menos hidrosolubles.

Las altas concentraciones de este elemento en suelo y agua, son producto de contaminación por fuentes antropogénicas entre estas se encuentran los procesos industriales en los que se utilizan mucho las sales de cromo, y pueden pasar al suministro de agua a través de los residuos industriales. Frecuentemente se añaden cromatos al agua de refrigeración para el control de la corrosión (Martinez, 2011).

Aunque existe evidencia de los efectos que la contaminación por Cr VI produce en el ambiente, en el país aun no existen normas que regulen el uso de este elemento, es por esto que en este trabajo menciono las normas establecidas por otros países, por ejemplo en el cuadro 3 se reproducen los límites a cumplir en suelos agrícolas según los umbrales españoles y en el cuadro 4 se presentan los establecidos para aguas.

Cuadro 3. Umbrales españoles para el Cr (mg.kg^{-1}) en suelos agrícolas.

NIVELES	pH<7
Nivel de referencia	<100
Nivel de investigación recomendable	100-250
Nivel de investigación obligatoria	250-450
Nivel de intervención	>450
Nivel de intervención en suelos de parques naturales	>500
Nivel de intervención en suelos de áreas industriales	>100

Fuente: Consejería de medio ambiente de la junta de Andalucía, 1999.

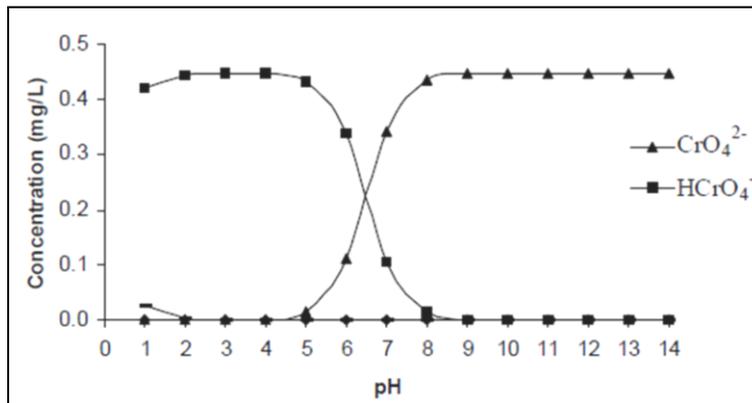
Cuadro 4. Umbrales en aguas.

Niveles en agua potable establecidos por la EPA	Exposición a concentraciones de cromo de 1 mg/L en el agua potable durante 1 ó 10 días no causará efectos adversos en un niño.
Niveles en agua en botella establecidos por la FDA	Niveles de cromo en el agua en botella no deben exceder 0.1 mg/L.
Niveles en el aire del trabajo establecidos por la OSHA	Límites legales en el aire del trabajo de 0.0005 mg/m ³ para cromo (VI), 0.5 mg/L para cromo (III) y 1.0 mg/L para cromo (0) como promedios durante una jornada diaria de 8 horas.
Aguas que son descargadas directamente a cuerpos superficiales de agua dentro de los macizos continentales, según Dubey y Gopal (2007)	El límite máximo permisible de Cr (VI) en aquellas es de 0.1 mg/L

4.4.2.2 Especiación de Cromo (VI)

El Cr (VI) forma diferentes especies dependiendo del pH y la concentración total de Cr (VI). La dependencia de este ión con el pH se presenta en la Figura 5, en ella se observa que a valores de pH > 7 predominan los iones CrO_4^{2-} , mientras que, a valores de pH entre 1-6, predomina el HCrO_4^- , Cotton y Wilkinson (1980); Nieboer y Jusys (1988). Es por esto que a los valores de pH normales de las aguas naturales se esperaría encontrar los iones CrO_4^{2-} , HCrO_4^- o $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$. Stollenwerk y Grove en 1985 encontraron que compuestos donantes de electrones, tales como la materia orgánica o especies inorgánicas reductoras, las cuales son muy abundantes en el suelo, el agua y la atmósfera, son capaces de reducir dichas especies de Cr(VI) a especies de Cr(III).

Figura 5. Especiación de Cr (VI) en función del pH (fuerza iónica $\approx 0.01\text{M}$ y $[\text{Cr (VI)}]= 1.0\text{mg L}^{-1}$).



Fuente: Sotelo, 2011

4.4.2.3 Métodos de remoción de Cromo VI

Los contaminantes de las aguas residuales industriales ricos en iones de metales pesados son un importante problema ambiental. Aunque las tecnologías de control se han aplicado a muchas fuentes industriales y municipales, la cantidad total de estos agentes liberados al medio ambiente sigue siendo asombrosa. Varios mecanismos de tratamiento se han desarrollado para eliminar el cromo de agua y aguas residuales. Los métodos comunes incluyen precipitación química (Paterson, 1975), de intercambio de iones (Tiravanti *et al*, 1997), separación de membrana, ultrafiltración, la flotación, electrocoagulación, extracción con disolvente, la sedimentación, la precipitación electroquímica (Roundhill, 2002), lavado de suelo, extracción electrocinética, fitorremediación, reducción (Chen, 1998), ósmosis inversa, diálisis/electrodiálisis, adsorción/filtración y la quelación (Tels, 1987). La precipitación química ha sido el método más empleado. Estos procesos de precipitación, incluyen precipitación de hidróxidos, sulfuros, carbonatos y la precipitación de fosfatos. La desventaja de la precipitación es la producción de los lodos, los cuales constituyen un residuo sólido cuya eliminación es un problema. El intercambio iónico se considera una mejor alternativa. Sin embargo, no es atractivo económicamente debido al elevado costo de operación. La mayoría de los métodos de reparación eliminan con mayor eficacia cromo de aguas que contienen altas concentraciones iniciales de cromo (por lo general por encima de $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$).

Recientemente, los investigadores han centrado cada vez más su atención hacia el uso de opciones ecológicas, tales como bacterias, hongos, algas, desechos industriales y agrícolas y ácidos húmicos (AH) para la eliminación de Cr (VI) de aguas residuales. Todos los estudios previos y las aplicaciones tecnológicas de la reducción de Cr (VI) ha empleado el uso de AH comerciales o AH del suelo, el carbón y la materia orgánica del agua. Sin embargo, el costo de la productos comerciales y los rendimientos relativamente bajos (mg de HA extraídos por g de material parental seco) de los AH sacados a partir de fuentes naturales a limitado su potencial en el uso en la remediación de sitios contaminados.

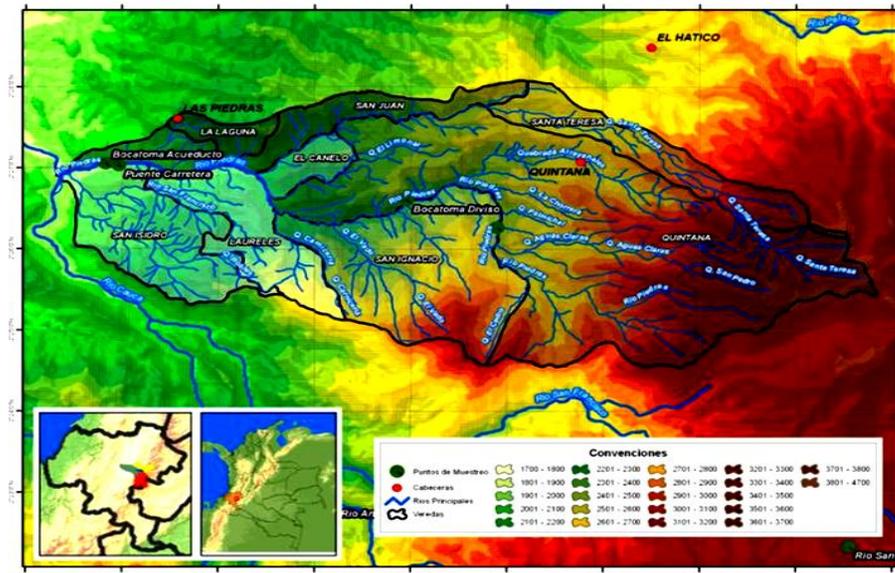
En este estudio se evalúa la capacidad de retención de las fracciones de ácidos fúlvicos (FAF) de dos sistemas de suelo provenientes de la microcuenca santa teresa como una posible fuente de eliminación de cromo hexavalente de sitios contaminados.

5. METODOLOGÍA

5.1 LOCALIZACIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO

Los suelos altoandinos empleados en este estudio, fueron suministrados por el grupo de Agroquímica obtenidos en trabajos anteriores. Estos suelos, se encuentran en un rango de altura entre 2850–3238 msnm, con clima frío-húmedo (temperatura media anual de 10.4 °C y precipitaciones medias anuales entre 1050 a 1200 mm). Orden de clasificación andisoles, asociación **Typic Hapludands** (FAO, 2009) localizados entre las coordenadas 2° 26' 17.73" N, 76° 24' 17.32" W, situados en la microcuenca Santa Teresa, cuenca andina de alta montaña del río Las Piedras, ubicada en el municipio de Totoró, Cauca. Estos suelos se caracterizan por presentar aún bosques primarios, pero con expansión de su frontera agrícola con actividades agropecuarias asociadas a cultivos de papa. En la figura 6 se detalla la localización geográfica de la subcuenca río Las Piedras ubicada en el departamento del Cauca, con una extensión de 6.700 hectáreas y un perímetro de 39 km (CRC, 2002). La microcuenca Santa Teresa donde se tomaron los suelos de estudio ocupa un área total de 1368 hectáreas, y sus suelos están dedicados a la agricultura principalmente al cultivo de papa (158 hectáreas), a ganadería extensiva (682 hectáreas) y a zonas de protección de bosques (400 hectáreas).

Figura 6. Localización de la subcuenca río Las Piedras



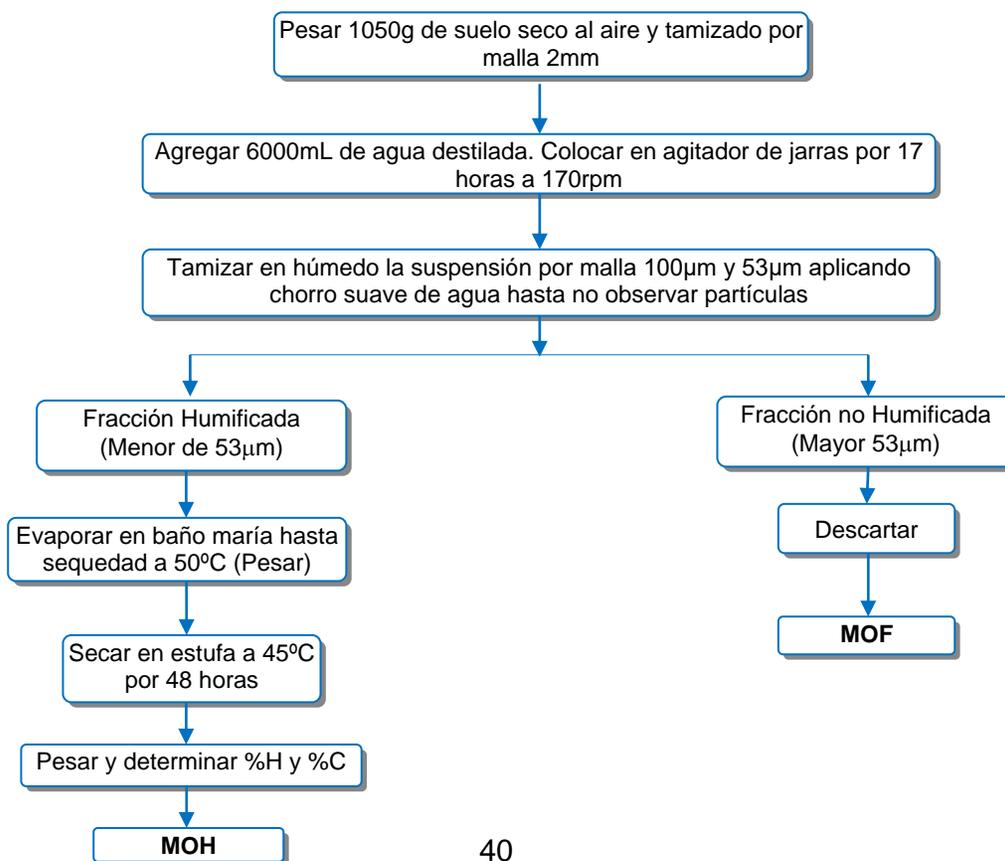
5.2 EXTRACCION DE LA FRACCIÓN FÚLVICA

La obtención de la fracción fúlvica se realizó para cada unidad experimental a partir de la muestra compuesta de suelo. Para la extracción secuencial de las Sustancias Húmicas (SH) se emplearon los protocolos descritos por (Mosquera y Bravo, 2006; Mosquera *et al.*, 2007) los cuales se describen a continuación.

5.2.1 Separación de la materia orgánica humificada (MOH) de la materia orgánica fresca (MOF).

Se realizó el fraccionamiento de la materia orgánica en materia orgánica humificada (MOH) y materia orgánica fresca (MOF), mediante el método granulométrico de tamizaje en húmedo, que se fundamenta en la diferencia de tamaño molecular en la MOS y consiste en disociar por tratamiento mecánico, a través de un tamizador eléctrico, los agregados normalmente estables del suelo en el agua. Teniendo en cuenta que este tratamiento produce el mínimo de desnaturalización, se separó la fracción menor de $53\mu\text{m}$ que corresponde a la MOH y la fracción mayor de $53\mu\text{m}$ correspondiente a MOF. Para separar dichas fracciones, se utilizó un tamizador automático (Retsch As200®). El proceso se describe en el figura 7, los pesos de MOH y MOF son normalizados a 100 g de suelo seco

Figura 7. Método granulométrico para el fraccionamiento de la materia orgánica.



5.2.2 Extracción Secuencial de las Sustancias Húmicas

Basándose en el principio de solubilidad, a partir de la MOH se separaron las fracciones: AH, AF y huminas, mediante la extracción secuencial de esta con soluciones básicas de tetraborato, pirofosfato e hidróxido de sodio (0,1N) y centrifugación a 16.508 x g durante 20 minutos. En el figura 8 se resume este procedimiento.

Figura 8. Extracción Secuencial de las Sustancias Húmicas.

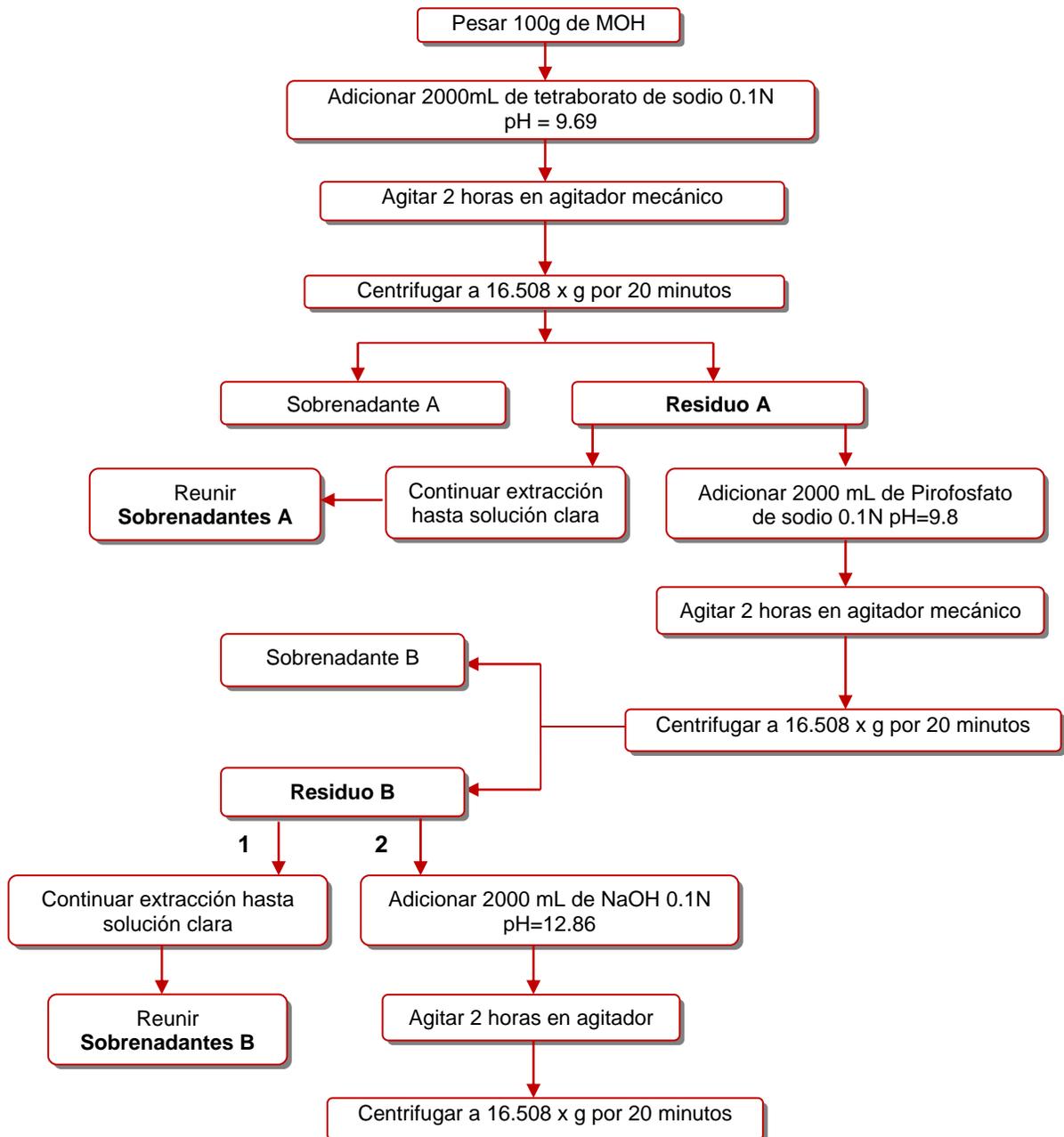
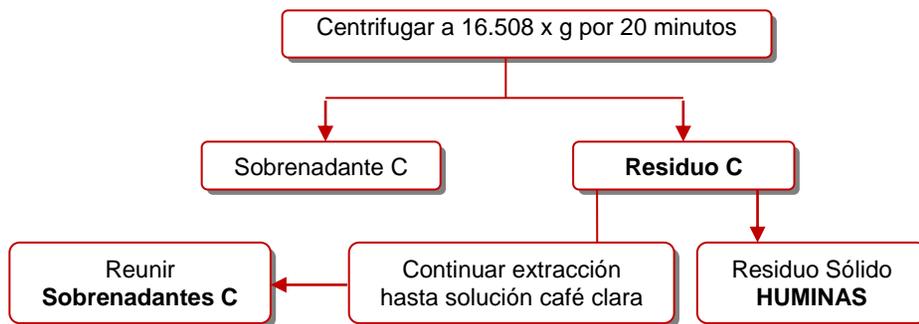


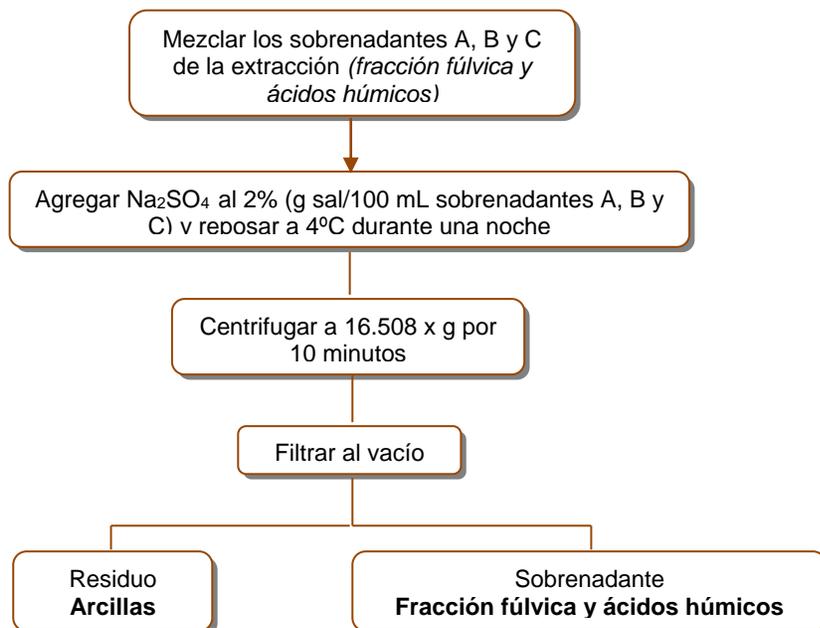
Figura 8. Continuación



5.2.3 Floculación de Arcillas

Debido a que es necesario romper los agregados órgano-minerales, se floculan las arcillas compuestas de naturaleza inorgánica que se encuentran ligados a las SH, mediante la adición de sulfato de sodio como se muestra en la figura 9.

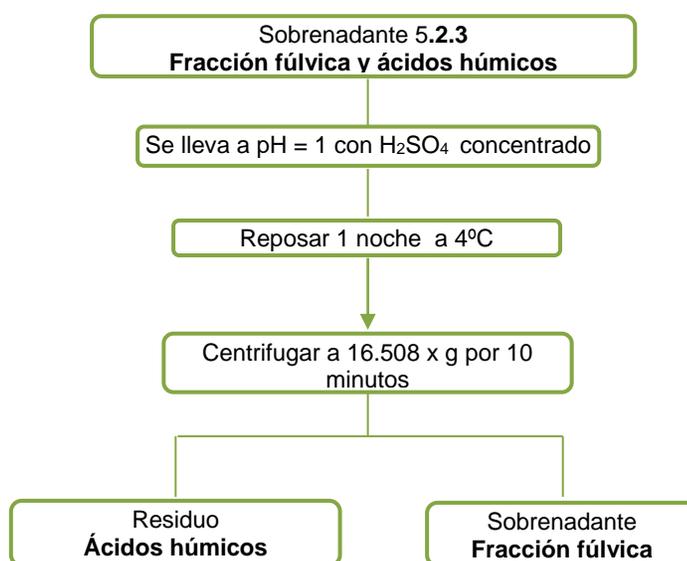
Figura 9. Floculación de las arcillas.



5.2.4 Separación de ácidos húmicos de la fracción fúlvica

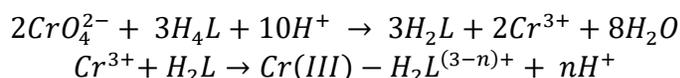
Para obtener la fracción que se empleara en esta investigación, los AH se separan de la fracción fúlvica por precipitación con H₂SO₄ a pH 1 y centrifugación a 16.508 x g durante 20 minutos, ya que son insolubles a pH ácido. Se aprecia la separación de un sobrenadante correspondiente a la fracción fúlvica y un residuo correspondiente a los AH. El desarrollo del proceso se detalla en la figura 10. Las fracciones fúlvicas extraídas, se rotulan debidamente para la evaluación de la retención de Cr VI sobre estas.

Figura 10. Separación de los ácidos húmicos y fúlvicos.



5.3 IMPLEMENTACIÓN Y EVALUACIÓN DEL MÉTODO COLORIMÉTRICO PARA LA DETERMINACIÓN DE CROMO HEXAVALENTE SOLUBLE CON DIFENILCARBAZIDA (DFC)

Con el fin de determinar la cantidad de cromo VI retenido en la FAF, se implementó el método colorimétrico de la DFC, el principio de este, se basa en una reacción redox donde el cromo hexavalente oxida, en medio ácido, la 1,5-difenilcarbazida a 1,5-difenilcarbazona reduciéndose a su vez a cromo trivalente. Estos iones de cromo (III) se combinan con la 1,5-difenilcarbazona formando un complejo de color rojo-violeta que se determina colorimétricamente a una longitud de onda de 540 nm. La intensidad de color es directamente proporcional a la concentración de cromo hexavalente.



Donde H_4L representa la 1,5 difenilcarbazona, H_2L la 1,5 difenilcarbazona y n el número de protones que intervienen en la reacción.

Este procedimiento se basa en el protocolo 7196-A de la EPA, las medidas de absorbancia se realizaron en el espectrofotómetro 1205-Vis UNICO con cuatro compartimientos para la muestra. Para la estandarización del método, se empleó agua desionizada, a la que se suministró una solución estándar de dicromato de potasio quedando en concentraciones entre 0.1-0.6 mg.L⁻¹ con el fin de evaluar la efectividad del método, su repetibilidad y reproducibilidad. Para esto, se hicieron curvas de calibración durante siete días por duplicado a excepción del primer día que se hizo por triplicado. Se determinaron parámetros como límites de detección y límites de cuantificación. A continuación se resume el método.

Reactivos:

Solución madre de $K_2Cr_2O_7$ (50 mg/L). Se seco el dicromato de potasio en estufa a 105 °C durante 2 horas. Se dejó enfriar en desecador. Se pesaron 7,1 mg de dicromato de potasio y se disolvió con agua destilada enrasando en balón aforado de 50mL.

Solución estándar dicromato de potasio (5mg/L). Se tomaron 5mL de la solución madre y se aforo a 50mL.

Disolución de difenilcarbazona ($C_{13}H_{14}N_4O$). Se disolvieron 250 mg de 1,5-difenilcarbazona en 50 mL de acetona. Se almacena en frascos de color ámbar. La disolución es transparente al momento de prepararla, después toma un color amarillo claro. Esta disolución se debe descartar cuando comience a decolorarse. Se conserva en nevera.

Agua destilada de alta pureza (conductividad máxima: 2µs/cm).

Disolución diluida de ácido sulfúrico (10%). Tomar 10mL de H_2SO_4 concentrado y llevar a 100mL.

Acetona grado reactivo analítico.

Procedimiento: se prepararon curvas de calibración preparando soluciones de 0.1; 0.2; 0.3; 0.4; 0.5 y 0.6 mg.L⁻¹ a partir de la solución estándar de 5 ppm y se determinó el rango de concentración lineal, en un volumen final de 25mL previa acidificación con H_2SO_4 hasta ajustar a un pH de $2 \pm 0,5$. Posteriormente se adicionó a la solución anterior 0,5mL de DFC, se dejó reaccionar durante 15 minutos y se efectuó la lectura a 540nm.

5.4 ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO DE ABSORCIÓN ATÓMICA PARA LA DETERMINACIÓN DE CROMO TOTAL

El procedimiento a efectuar se basa en el protocolo 3005-A de la EPA, el método consiste en una digestión ácida usada para aguas residuales y superficiales que van a ser analizadas por espectrofotometría de absorción atómica de llama (EAA). Se prepararon soluciones estándar de dicromato de potasio en un rango de 1-10 mg.L⁻¹ con el fin de evaluar la efectividad del método, su repetibilidad y reproducibilidad. Para esto, se hicieron dopajes durante cinco días por triplicado. A continuación se resume el método.

Reactivos:

Solución madre de K₂Cr₂O₇ (50 mg/L). Se secó dicromato de potasio en estufa a 105 °C durante 2 horas. Se dejó enfriar en desecador. Se pesaron 14,3 mg de dicromato de potasio y se disolvió con agua destilada enrasando a 100mL.

Agua desionizada (conductividad máxima: 1µs/cm).

Acido clorhídrico concentrado

Acido nítrico concentrado

Procedimiento: Se prepararon 50 mL de soluciones de dicromato de potasio de concentración 1, 2, 4, 6 y 10 ppm. A cada una, se agregó 1mL de HNO₃ y 2,5mL de HCl. Se calentó hasta reducir a un volumen de 7-10 mL. Se enfrió y se lavaron las paredes del recipiente. Se ajustó el volumen final a 50 mL con agua desionizada. Posteriormente se realizó la lectura en el espectrofotómetro de absorción atómica a 357,9nm. La lectura fue realizada con la respectiva curva de calibración por el método de mínimos cuadrados.

5.5 DETERMINACIÓN DE LA RETENCIÓN DE CROMO HEXAVALENTE Y CROMO TOTAL EN LA FRACCIÓN DE ACIDOS FÚLVICOS

Se evaluó mediante EAA el Cromo presente en las muestras de FAF (bosque y Cultivo). Posteriormente, se realizó un dopaje a cada fracción fúlvica con una solución de dicromato de potasio llevando a concentración final de 0.5, 1, 2, 4, 8, 10, 20, 40, 60, 80 y 100 mg.L⁻¹ utilizando el método en paralelo (Bravo *et al.*, 2007). Una vez hecho el dopaje las muestras se incubaron a temperatura ambiente durante un período de cinco días, realizando la determinación de Cr VI soluble y Cr total en los días: cero (D0) o día de dopaje, el día tres (D3) y el día 5 (D5) después del dopaje.

Las soluciones de AF fueron filtradas y centrifugadas previas al suministro de Cr VI para eliminar silicatos y materiales insolubles que pudieran dañar el nebulizador u obstruir con la medición en el UV-Vis.

5.5.1 Determinación de cromo retenido por el método de la DFC

Para determinar la cantidad de Cr VI retenido y el % retención de Cr VI en las FAF se tomaron 5mL de cada fracción dopada, se ajusto a un valor de pH entre $2 \pm 0,5$ y se aforó a 25mL, añadiendo posteriormente 0,5mL de DFC, leyendo a 540nm en el UV-Vis. En los casos en los que fue necesario se realizo dilución para que las absorbancias de las muestras entraran en el rango de concentración de la curva ($0,1-0,6 \text{ mg.L}^{-1}$) y se ajusto el pH cuando fue necesario. La lectura se realizo por triplicado para cada FAF dopado, y cada día de incubación (D0, D3 y D5), obteniendo un total de 99 datos para cada una de las FAF.

El cromo VI retenido será obtenido de acuerdo a la ecuación1.

$$\text{Cr VI retenido} = \text{CrVI suministrado} - \text{CrVI determinado por DFC} \quad \text{Ec.1}$$

Donde:

Cr retenido, es el Cr que fue complejado por la fracción fúlvica.

Cr suministrado, es la cantidad real suministrada al AF, calculada por la verificación de la concentración por EAA.

Cr determinado por DFC, es la concentración que no fue retenida y es la que da la absorbancia en el método.

EL % Cr VI retenido será calculado según la ecuación 2

$$\%CrVIretenido = \frac{Cr VI retenido}{Cr VI suministrado} * 100 \quad \text{Ec 2}$$

5.5.2 Determinación de cromo total por EAA

La determinación de Cr total en cada FAF se realizó por EAA en cada día establecido anteriormente. La lectura en el espectrofotómetro de absorción atómica se realizo a 357,9nm y de acuerdo a lo descrito en 5,4.

5.6 DETERMINACIÓN DE METALES PRESENTES EN LAS FRACCIONES DE LOS ÁCIDOS FÚLVICOS

Con el objeto de evaluar si la presencia de iones metálicos en las FAF influyen en la retención de Cr VI, se determinaron hierro, calcio, aluminio y magnesio como posibles metales presentes en las FAF, para esto se siguió la metodología descrita por (Bravo

y Giraldo, 2003). Las muestras analizadas fueron las FAF puros y las suministradas con 100 mg.L^{-1} de Cr VI leídas por EAA a las longitudes de onda correspondientes para cada metal.

De cada muestra se tomaron 5mL aforando con agua desionizada en un balón aforado hasta completar los 50 mL, para la lectura de calcio y magnesio se agregaron 10 mL de óxido de lantano para eliminar interferentes.

5.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para evaluar la retención de Cr VI en las FAF, se realizó un diseño multifactorial, donde los factores o variables independientes fueron: niveles de concentración de Cr VI suministrado, uso de suelo y tiempo de incubación. Las variables dependientes fueron: cantidad de Cr VI retenido y porcentaje de retención para cada FAF.

El diseño del método comprendió 2 usos (bosque y cultivo) x 11 niveles de concentración de Cr VI suministrado x 3 días de incubación x 2 análisis (Cr total y Cr VI retenido) para un total de 132 tratamientos cada uno con tres réplicas. El tratamiento estadístico integral de la información se realizó mediante el programa estadístico SPSS Statistics versión 11.5.

6. RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADO

A continuación se discuten los resultados del proceso experimental planteado, en primera instancia, se mencionan algunas características encontradas en las FAF, seguido por las implementaciones de los métodos a utilizar, análisis de los resultados obtenidos en los dos usos de suelo y los metales presentes, finalizando con la comparación de los resultados con las propiedades de la MOH.

6.1 CARACTERISTICAS DE LAS FRACCIONES DE ÁCIDOS FÚLVICOS

En el cuadro 5 se presentan algunos parámetros como porcentaje de Ácidos fúlvicos extraído (%AF), Carbono de Ácidos Fúlvicos (%CAF), Carbono de Ácidos Fúlvicos en MOH (CAF en 100g MOH) y finalmente la densidad. Se destaca que el %CAF, CAF.100gMOH⁻¹ y el %AF para el uso de bosque son superiores que para el cultivo, por tanto este uso presentara mayor afinidad por los metales.

Cuadro 5. Algunas propiedades físicas y químicas de los ácidos fúlvicos.

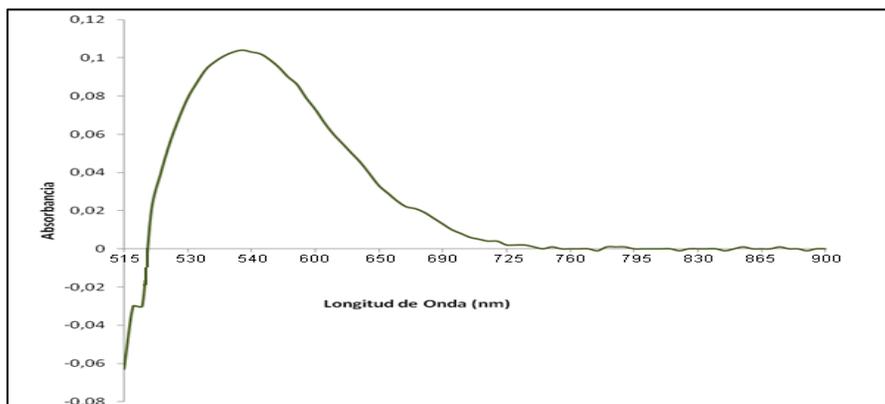
	%AF	%CAF	CAF.100g MOH ⁻¹	Densidad (g.mL ⁻¹)
Cultivo	52,89	11,61	6,14	1.046
	52,89	11,56	6,11	
	52,89	11,59	6,13	
Bosque	54,64	12,85	7,02	1.026
	54,64	12,80	6,99	
	54,64	12,82	7,01	

6.2 IMPLEMENTACION Y ESTANDARIZACION DE LAS METODOLOGIAS

6.2.1 Implementación y estandarización de Cr VI por UV-Vis

Inicialmente se hace un barrido en el rango de 500 a 900 nm con soluciones de 0.1 y 0.6 mg.L⁻¹ para seleccionar la longitud de onda de máxima absorción, obteniéndose la figura 11 de la cual se deduce la máxima absorbancia corresponde a la longitud de onda de 542nm. Se implementó el método descrito en la metodología 5.3, preparando curvas de calibración en el rango de 0 a 0,6 mgCr⁺⁶.L⁻¹ a partir de una solución stock de 5 mg.L⁻¹, teniendo como blanco de reactivos agua desionizada, con lecturas de absorbancia en la longitud de onda seleccionada.

Figura 11. Curva de barrido para la estandarización de Cr VI soluble por UV-Vis.



Se evaluó la linealidad instrumental, precisión en términos de precisión intermedia y límites críticos, para ello se aplicaron pruebas estadísticas como análisis de varianza (ANOVA) empleando el software estadístico SPSS (Versión 11.5.1).

6.2.1.1 Linealidad instrumental del método de determinación de Cr VI por UV-Vis

Se evaluaron 6 niveles de concentración durante 7 días diferentes. Se prepararon tres curvas de calibración para el primer día y dos curvas para los otros días, las cuales se sometieron al método descrito en la metodología 5.3. Los resultados se presentan en el cuadro 6.

Cuadro 6. Resultados para la evaluación de la linealidad instrumental del método de determinación de Cr VI por UV-Vis.

Día	Curva	Absorbancia					
		0,1(N1)	0,2(N2)	0,3(N3)	0,4(N4)	0,5(N5)	0,6(N6)
1	1	0,061	0,113	0,145	0,197	0,231	0,286
	2	0,054	0,096	0,133	0,189	0,232	0,282
	3	0,055	0,104	0,159	0,212	0,250	0,292
2	1	0,055	0,106	0,149	0,194	0,246	0,293
	2	0,060	0,117	0,157	0,213	0,256	0,305
3	1	0,060	0,122	0,163	0,224	0,262	0,308
	2	0,055	0,110	0,148	0,200	0,245	0,280
4	1	0,062	0,113	0,167	0,207	0,242	0,300
	2	0,055	0,115	0,166	0,224	0,269	0,304
5	1	0,052	0,111	0,160	0,219	0,256	0,296
	2	0,055	0,111	0,175	0,220	0,302	0,349
6	1	0,064	0,114	0,156	0,228	0,261	0,298
	2	0,057	0,119	0,161	0,210	0,248	0,292
7	1	0,061	0,123	0,165	0,224	0,280	0,332
	2	0,056	0,125	0,180	0,228	0,279	0,313

Se realizan una serie de pruebas con el paquete estadístico SPSS planteando siempre dos hipótesis: Una hipótesis nula (H_0) y una hipótesis alternativa (H_a). Con base en el valor de significancia (sig.), se acepta o rechaza la H_0 , de acuerdo a si este valor es superior o igual o menor de 0,05 respectivamente. Si se rechaza la hipótesis nula, se debe aceptar la alternativa en cada prueba. Con estos valores, se calcula la normalidad de los datos en función del día y en función del nivel de concentración, empleando la prueba de Shapiro-Wilk, debido a que el número de datos es menor a 30, en la que se tiene como hipótesis nula (H_0) “los datos obtenidos provienen de una población normal”. Con esta información se aplicaron pruebas paramétricas (en caso de obtener datos normales), de lo contrario, pruebas no paramétricas. Los resultados obtenidos, provienen de una población con distribución normal con una significancia estadística superior a 0,05 (cuadro 86 y 87, anexo A). La normalidad de estos resultados permitió aplicar pruebas paramétricas para su correspondiente análisis estadístico.

Se aplica la prueba ANOVA para saber si existen diferencias significativas entre las medias de los valores de absorbancia de cada uno de los 6 niveles de concentración. Los resultados se presentan en el cuadro 7.

Cuadro 7. ANOVA de Absorbancia en función del nivel de concentración como variable independiente del método de determinación de Cr VI por UV-Vis.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	0,626	5	0,125	693,553	0,000
Intra-grupos	0,015	84	0,000		
Total	0,641	89			

El resultado obtenido indica que las absorbancias difieren significativamente. La prueba de Homogeneidad de varianzas ($p < 0.05$), permite establecer que éstas no son homogéneas y por tanto se aplica la prueba de Bonferroni para saber entre cuáles niveles de concentración hay diferencia significativa, (cuadro 8).

Cuadro 8. Prueba de Bonferroni (post hoc) de absorbancia en función del nivel de concentración del método de determinación de Cr VI por UV-Vis.

(I) NIVEL	(J) NIVEL	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
1	2	-0,05580(*)	0,004907	0,000	-0,07063	-0,04097
	3	-0,10147(*)	0,004907	0,000	-0,11629	-0,08664
	4	-0,15513(*)	0,004907	0,000	-0,16996	-0,14031
	5	-0,19980(*)	0,004907	0,000	-0,21463	-0,18497
	6	-0,24453(*)	0,004907	0,000	-0,25936	-0,22971
2	1	0,05580(*)	0,004907	0,000	0,04097	0,07063
	3	-0,04567(*)	0,004907	0,000	-0,06049	-0,03084
	4	-0,09933(*)	0,004907	0,000	-0,11416	-0,08451
	5	-0,14400(*)	0,004907	0,000	-0,15883	-0,12917
3	1	0,10147(*)	0,004907	0,000	0,08664	0,11629
	2	0,04567(*)	0,004907	0,000	0,03084	0,06049
	4	-0,05367(*)	0,004907	0,000	-0,06849	-0,03884
	5	-0,09833(*)	0,004907	0,000	-0,11316	-0,08351
	6	-0,14307(*)	0,004907	0,000	-0,15789	-0,12824

Cuadro 8. Continuación

(I) NIVEL	(J) NIVEL	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
4	1	0,15513(*)	0,004907	0,000	0,14031	0,16996
	2	0,09933(*)	0,004907	0,000	0,08451	0,11416
	3	0,05367(*)	0,004907	0,000	0,03884	0,06849
	5	-0,04467(*)	0,004907	0,000	-0,05949	-0,02984
	6	-0,08940(*)	0,004907	0,000	-0,10423	-0,07457
5	1	0,19980(*)	0,004907	0,000	0,18497	0,21463
	2	0,14400(*)	0,004907	0,000	0,12917	0,15883
	3	0,09833(*)	0,004907	0,000	0,08351	0,11316
	4	0,04467(*)	0,004907	0,000	0,02984	0,05949
	6	-0,04473(*)	0,004907	0,000	-0,05956	-0,02991
6	1	0,24453(*)	0,004907	0,000	0,22971	0,25936
	2	0,18873(*)	0,004907	0,000	0,17391	0,20356
	3	0,14307(*)	0,004907	0,000	0,12824	0,15789
	4	0,08940(*)	0,004907	0,000	0,07457	0,10423
	5	0,04473(*)	0,004907	0,000	0,02991	0,05956

* La diferencia entre las medias es significativa al nivel 0 .05.

Se aprecia que la absorbancia de cada nivel de concentración es significativamente diferente, además existe una relación directa entre absorbancia y concentración, la cual aumenta proporcionalmente al incremento de la concentración.

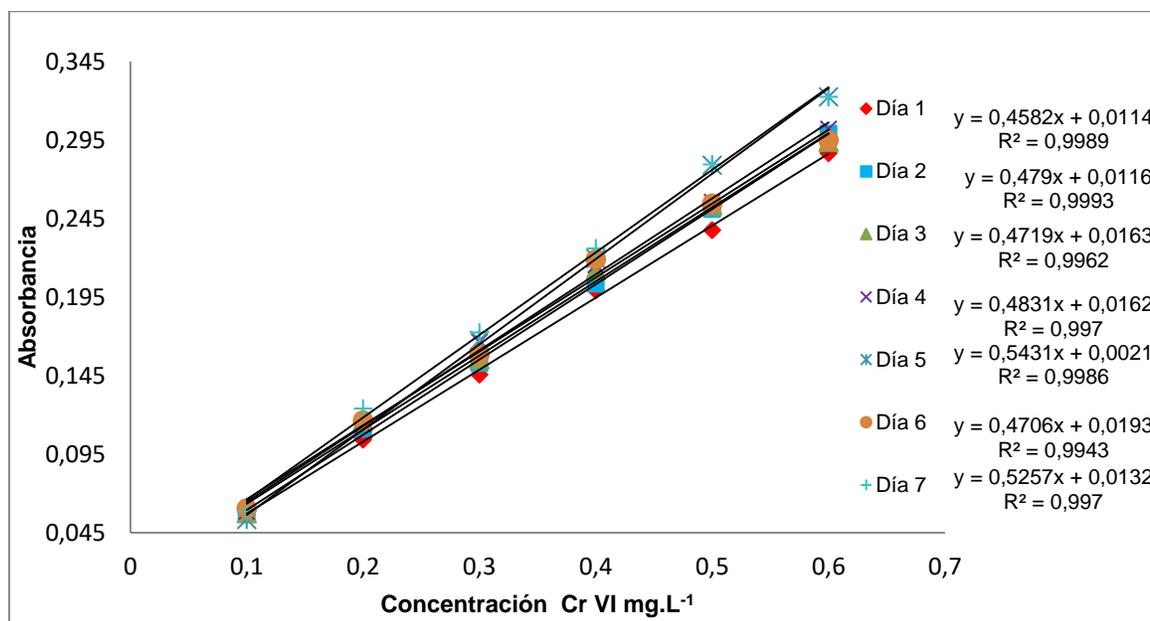
Ahora, considerando el día como factor independiente se aplicó la prueba de ANOVA encontrando que no existe diferencia significativa entre los valores de absorbancia de las diferentes concentraciones en los diferentes días del ensayo (cuadro 9), demostrando la reproducibilidad del método.

Cuadro 9. ANOVA Absorbancia en función del día como variable independiente del método de determinación de Cr VI por UV-Vis.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	0,006	6	0,001	0,130	0,992
Intra-grupos	0,635	83	0,008		
Total	0,641	89			

La tendencia de los datos se evaluó a través de un gráfico relacionando la absorbancia respecto nivel de concentración, la gráfica obtenida se muestra en la figura 12 donde se observa la tendencia lineal de los resultados, por lo que se aplicó el método de mínimos cuadrados para hallar una ecuación lineal que relaciona la cantidad de cromo hexavalente con la absorbancia.

Figura 12. Curva de calibración de Cr VI bajo condiciones de precisión intermedia del método de determinación de Cr VI por UV-Vis.



Se calcularon los valores para la pendiente, el intercepto, el coeficiente de correlación y sus correspondientes desviaciones estándar, obteniendo los resultados que se muestran en el cuadro 10.

Cuadro 10. Evaluación de la linealidad instrumental del método de determinación de Cr VI por UV-Vis.

PARAMETRO	SIMBOLO	VALOR
Coefficiente de Correlación	r	0,999
Pendiente	b	0,490
Intercepto	a	0,0129
Desviación Estándar intercepto	Sa	0,0061
Desviación Estándar pendiente	Sb	0,0122

El coeficiente de correlación se evaluó estadísticamente teniendo como Ho: “No existe correlación significativa entre x e y”. Como se observa en el cuadro 11, la prueba es significativa ($p= 0,000$), por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que existe correlación altamente significativa entre la respuesta brindada por el equipo (absorbancia) y la concentración, con un coeficiente de Pearson de 0.987.

Cuadro 11. Correlación de Pearson para evaluar linealidad de curvas del método de determinación de Cr VI por UV-Vis.

Correlaciones		Nivel de concentración	Absorbancia
Nivel de concentración	Correlación de Pearson	1	0,987(**)
	Sig. (bilateral)	.	0,000
	N	90	90
Absorbancia	Correlación de Pearson	0,987(**)	1
	Sig. (bilateral)	0,000	.
	N	90	90

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Para evaluar estadísticamente la pendiente y el intercepto se plantean las siguientes hipótesis: Para la pendiente se tiene como H_0 : “b no es significativamente diferente de cero”, la cual se rechaza cuando la prueba estadística es significativa, $p < 0,05$.

Para el intercepto se tiene como H_0 : “a no es significativamente diferente de cero”, la cual se rechaza cuando la prueba estadística es significativa, $p < 0,05$.

Como se observa en el cuadro 12, la significancia estadística tanto para la pendiente como para el intercepto son inferiores a 0,05, por lo que se deben rechazar las hipótesis nulas, y concluir que la pendiente y el intercepto son significativamente diferentes de cero.

Cuadro 12. Resultados obtenidos en la evaluación estadística de la pendiente y el intercepto del método de determinación de Cr VI por UV-Vis.

Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.	Intervalo de confianza para B al 95%	
		B	Error típ.	Beta			Límite inferior	Límite superior
1	Intercepto	0,013	0,003		3,927	0,000	0,006	0,019
	Pendiente	0,488	0,008	0,987	58,527	0,000	0,472	0,505

Mediante análisis de varianza (ANOVA) se evaluó estadísticamente la regresión en la curva de calibración, para evaluar la regresión se tiene como hipótesis nula: “No hay regresión significativa en la curva de calibración ($R^2 = 0$)”, y como hipótesis alternativa “Hay regresión significativa en la curva de calibración ($R^2 \neq 0$)”. Como se observa en el cuadro 13, la significancia para la regresión es menor de 0,05 por lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alternativa, concluyendo que existe regresión significativa en la curva de calibración.

Cuadro 13. Análisis de varianza para evaluar la regresión lineal en la curva de calibración del método de determinación de Cr VI por UV-Vis.

Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	0,625	1	0,625	3425,466	0,000(a)
	Residual	0,016	88	0,000		
	Total	0,641	89			

Los resultados obtenidos en las pruebas estadísticas para la evaluación de linealidad permiten concluir que el método instrumental empleado es lineal en el rango entre 0,1 y 0,6 mg Cr⁶⁺.L⁻¹ , con una coeficiente de correlación equivalente 0,999.

6.2.1.2 Precisión instrumental del método de determinación de Cr VI por UV-Vis

Se evaluó bajo condiciones de repetibilidad (el mismo día) y precisión intermedia (días diferentes). En condiciones de repetibilidad se prepararon 3 curvas de calibración con 6 niveles de concentración y un blanco las cuales se analizaron el mismo día bajo las mismas condiciones. Los resultados obtenidos se presentan en el cuadro 6.

Para el ensayo de precisión intermedia se prepararon curvas de calibración durante 7 días diferentes, dos curva de calibración por día, los resultados obtenidos se presentan en el cuadro 6. Se calculó el % C.V por nivel de concentración bajo condiciones de repetibilidad y precisión intermedia. Los resultados se presentan en el cuadro 14

Cuadro 14. Precisión instrumental bajo condiciones de repetibilidad y precisión intermedia del método de determinación de Cr VI por UV-Vis.

NIVEL	REPETIBILIDAD		PRECISION INTERMEDIA	
	DESV. EST	% C.V	DESV. EST	% C.V
N1	0,004	6,681	0,004	6,177
N2	0,009	8,152	0,008	6,997
N3	0,013	8,933	0,012	7,286
N4	0,012	5,858	0,013	5,866
N5	0,011	4,499	0,018	7,104
N6	0,005	1,756	0,019	6,125

Como se observa en el cuadro 14 los % C.V de repetibilidad son inferiores al 9% y los de precisión intermedia inferiores al 7.3%, indicando alta reproducibilidad del método, y alta precisión instrumental.

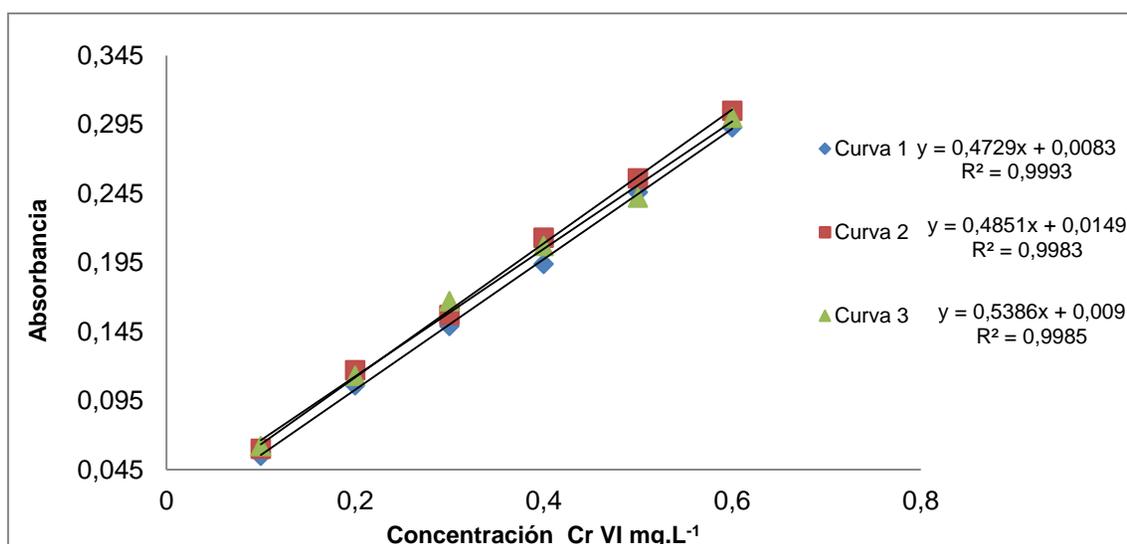
6.2.1.3 Limites críticos del método de determinación de Cr VI por UV-Vis

Los límites de detección y cuantificación se determinaron teóricamente aplicando el método sugerido por la IUPAC (Swartz, 1997; Miller, 2000). Se prepararon 3 curvas de calibración las cuales se analizaron el mismo día, bajo las mismas condiciones (cuadro 15). Con los resultados obtenidos, se elaboró un gráfico que relaciona la absorbancia vs la concentración, el cual se ilustra en la figura 13.

Cuadro 15. Curvas de calibración bajo condiciones de repetibilidad del método de determinación de Cr VI por UV-Vis

Nivel de concentración mg.L ⁻¹	Absorbancia de Cromo hexavalente por UV-Vis		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3
0,1 (N1)	0,055	0,060	0,062
0,2 (N2)	0,106	0,117	0,113
0,3 (N3)	0,149	0,157	0,167
0,4 (N4)	0,194	0,213	0,207
0,5 (N5)	0,246	0,256	0,242
0,6 (N6)	0,293	0,305	0,300

Figura 13. Curva de calibración de Cr VI bajo condiciones de repetibilidad del método de determinación de Cr VI por UV-Vis.



Seguidamente, se calculó mediante el método de mínimos cuadrados las ecuaciones de las líneas de tendencia en cada curva, obteniendo de esta forma los interceptos y las pendientes para cada una de las tres curvas de calibración, con estos datos se determinó la desviación estándar de los interceptos (S_a) y el promedio de las pendientes (m_{prom}). Finalmente se aplicaron las ecuaciones 3 y 4 para establecer teóricamente los valores para el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ), los resultados se muestran en el cuadro 16.

$$LOD = \frac{3 s_{interceptos}}{m_{prom}} \quad \text{Ecuación 3}$$

$$LOQ = \frac{10 s_{interceptos}}{m_{prom}} \quad \text{Ecuación 4}$$

Cuadro 16. Calculo del límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ) del método de determinación de Cr VI por UV-Vis.

PARAMETRO	CURVA 1	CURVA 2	CURVA 3	Sa	Promedio m	LOD	LOQ
						(mg.L ⁻¹)	(mg.L ⁻¹)
Pendiente	0,4729	0,4851	0,5386	0,0042	0,4989	0,0253	0,0842
Intercepto	0,0083	0,0149	0,009				

Se deduce que el nivel más bajo (0,1 mg.L⁻¹) utilizado en las curvas de calibración es superior al límite de cuantificación y de detección.

6.2.1.4 Validación de la metodología del método de determinación de Cr VI por UV-Vis

Para la validación de la metodología se evaluaron los parámetros linealidad, exactitud, precisión y límites críticos. Para la evaluación estadística de estos parámetros se empleó el software estadístico SPSS (Versión 11.5.1).

Linealidad. Correspondiente a la linealidad instrumental, por lo que se emplearon curvas de calibración sometidas a la metodología planteada.

Precisión y Exactitud. Se prepararon curvas de calibración durante 7 días diferentes, dos curvas de calibración por día, los resultados obtenidos se presentan en el cuadro 5. Se determinó la precisión y exactitud por nivel de concentración en las curvas de calibración, en términos de porcentaje de recuperación (%R) los cuales fueron calculados aplicando la ecuación 5, los resultados obtenidos se presentan en el cuadro 17. Los % C. V obtenidos son inferiores al 10 % y los % R calculados están comprendidos en el rango adecuado (95-105%) (Arriola, 2012).

$$\% \text{ Recuperacion} = \frac{(\text{Concentracion Obtenida Experimental})}{(\text{Concentracion Real Preparada})} \times 100 \quad \text{Ecuación 5}$$

Cuadro 17. Exactitud y precisión del método de determinación de Cr VI por UV-Vis en términos de Porcentajes de Recuperación.

NIVEL	Precisión intermedia		
	DESV. EST	% C.V	%R
N1	0,004	3,948	96,109
N2	0,008	3,870	102,391
N3	0,012	3,907	100,545
N4	0,013	3,093	102,501
N5	0,019	3,709	100,431
N6	0,019	3,159	98,706

Con el fin de determinar la exactitud y precisión para la metodología global se aplicó la prueba estadística de homogeneidad de varianzas (Estadístico de Levene), teniendo para ella como hipótesis nula que “El nivel de concentración no afecta la variabilidad en los porcentajes de recuperación”. Los resultados de esta prueba se muestran en el cuadro 18.

Cuadro 18. Prueba estadística de homogeneidad de varianzas del método de determinación de Cr VI por UV-Vis.

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Basándose en la media	0,505	5	74	0,772
Basándose en la mediana	0,311	5	74	0,905
Basándose en la mediana y con gl corregido	0,311	5	50,314	0,904
Basándose en la media recortada	0,439	5	74	0,820

Como se observa en el cuadro 18, la significancia estadística basándose en la media para el Estadístico de Levene es mayor a 0,05 ($p= 0,772$), por lo que la prueba estadística no es significativa y por lo tanto se acepta la hipótesis nula, concluyendo que el nivel de concentración no afecta la variabilidad en los % R obtenidos. Esto permite calcular un % R_{prom} basándose en la media de los datos del porcentaje de recuperación para cada nivel (cuadro 17) y un % C.V para la metodología global. Los resultados se muestran en el cuadro 19.

Cuadro 19. Exactitud y precisión para la metodología global en la determinación de Cr VI por UV-Vis con base en la media.

	Nivel						R _{Prom}	Desvesta	%CV
	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6			
% R	96,109	102,391	100,545	102,501	100,431	98,706	100.114	2.42	2.41

El cuadro 19 permite deducir un método exacto y preciso con un %R para la metodología global del 100.114% en base a la media y un bajo %CV.

6.2.2 Implementación del método de determinación de Cr total por EAA

Se implementó el método descrito en la metodología (5.4) preparando soluciones de Cr VI en el rango de 1 a 10 mg.L⁻¹ a partir de una solución estándar de 50 mg.L⁻¹, teniendo como blanco de reactivos agua desionizada, HCl y HNO₃. Se lee la absorbancia respectiva a una longitud de onda de 357,9 nm.

Se evaluó la linealidad instrumental, precisión en términos de precisión intermedia y límites críticos, para ello se aplicaron pruebas estadísticas como análisis de varianza (ANOVA) empleando el software estadístico SPSS (Versión 11.5.1).

6.2.2.1 Linealidad instrumental de cromo total por EAA

Se evaluaron 5 niveles de concentración durante 4 días diferentes. Se prepararon tres réplicas para cada uno de los niveles en cada día y se sometieron al método descrito en la metodología. Los resultados se presentan en el cuadro 20.

Cuadro 20. Resultados para la evaluación de la linealidad instrumental del método de determinación de Cr total por EAA.

		Absorbancia				
Día	Curva	1(N1)	2(N2)	4(N3)	6(N4)	10(N5)
1	1	0,068	0,136	0,270	0,398	0,673
	2	0,071	0,135	0,272	0,395	0,676
	3	0,070	0,134	0,271	0,396	0,674
2	1	0,075	0,134	0,265	0,406	0,672
	2	0,073	0,132	0,270	0,396	0,678
	3	0,072	0,134	0,271	0,403	0,670
3	1	0,068	0,134	0,266	0,410	0,674
	2	0,065	0,132	0,267	0,407	0,667
	3	0,064	0,133	0,263	0,405	0,670
4	1	0,069	0,134	0,271	0,399	0,674
	2	0,067	0,134	0,274	0,403	0,679
	3	0,068	0,132	0,271	0,408	0,676

Se realizan una serie de pruebas con el paquete estadístico SPSS planteando siempre dos hipótesis: Una hipótesis nula (H_0) y una hipótesis alternativa (H_a). Con base en el valor de significancia (p), se acepta o rechaza la H_0 , de acuerdo a si este valor es superior, igual o menor de 0,05 respectivamente. Si se rechaza la hipótesis nula, se debe aceptar la alternativa en cada prueba.

Con estos datos se calcula la normalidad de los datos en función del nivel de concentración con la prueba de Shapiro-Wilk, encontrando que los resultados provienen de una población con distribución normal en función del nivel de concentración con una significancia estadística superior a 0,05 (cuadro 88, anexo A). Se aplica la prueba ANOVA para saber si existen diferencias significativas entre las medias de los valores de absorbancia de cada uno de los 5 niveles de concentración. Los resultados se presentan en el cuadro 21.

Cuadro 21. ANOVA de Absorbancia en función del nivel de concentración como variable independiente del método de determinación de Cr total por EAA.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2,777	4	0,694	56393,523	0,000
Intra-grupos	0,001	55	0,000		
Total	2,778	59			

El resultado obtenido indica que existe diferencia significativa en los valores de absorbancia en función del nivel de concentración. La prueba de Homogeneidad de varianzas ($p < 0.05$), permite establecer que éstas no son homogéneas y por tanto se aplica la prueba de Bonferroni para saber entre cuáles niveles de concentración hay diferencia significativa, (cuadro 22).

Cuadro 22. Prueba de Bonferroni (post hoc) de absorbancia en función del nivel de concentración del método de determinación de Cr total por EAA.

(I) PATRON	(J) PATRON	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
1	2	-0,06450(*)	0,001432	0,000	-0,06869	-0,06031
	4	-0,20008(*)	0,001432	0,000	-0,20427	-0,19589
	6	-0,33300(*)	0,001432	0,000	-0,33719	-0,32881
	10	-0,60442(*)	0,001432	0,000	-0,60861	-0,60023
2	1	0,06450(*)	0,001432	0,000	0,06031	0,06869
	4	-0,13558(*)	0,001432	0,000	-0,13977	-0,13139
	6	-0,26850(*)	0,001432	0,000	-0,27269	-0,26431
	10	-0,53992(*)	0,001432	0,000	-0,54411	-0,53573
4	1	0,20008(*)	0,001432	0,000	0,19589	0,20427
	2	0,13558(*)	0,001432	0,000	0,13139	0,13977
	6	-0,13292(*)	0,001432	0,000	-0,13711	-0,12873
	10	-0,40433(*)	0,001432	0,000	-0,40852	-0,40014
6	1	0,33300(*)	0,001432	0,000	0,32881	0,33719
	2	0,26850(*)	0,001432	0,000	0,26431	0,27269
	4	0,13292(*)	0,001432	0,000	0,12873	0,13711
	10	-0,27142(*)	0,001432	0,000	-0,27561	-0,26723
10	1	0,60442(*)	0,001432	0,000	0,60023	0,60861
	2	0,53992(*)	0,001432	0,000	0,53573	0,54411
	4	0,40433(*)	0,001432	0,000	0,40014	0,40852
	6	0,27142(*)	0,001432	0,000	0,26723	0,27561

* La diferencia entre las medias es significativa al nivel .05.

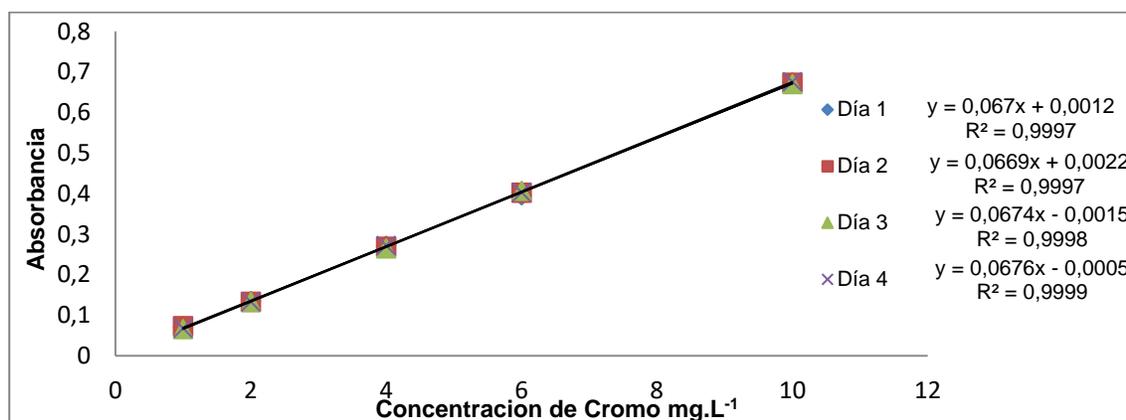
Se aprecia que la absorbancia de cada nivel de concentración es significativamente diferente indicando la relación directa entre absorbancia y concentración.

Cuando se considera el día como variable independiente, la normalidad de estos resultados permitió aplicar pruebas no paramétricas para su correspondiente análisis estadístico, ($p < 0,05$) (cuadro 89, anexo A). Se aplica la prueba de Kruskal-Wallis para saber si existe diferencia significativa entre las medias de los valores de absorbancia de cada nivel respecto al día. Los resultados se presentan en el cuadro 23. De acuerdo a la significancia encontrada (0,972), no existe diferencia significativa, demostrando la reproducibilidad de los datos. La tendencia de los datos se evaluó a través de un gráfico relacionando la absorbancia en función del nivel de concentración, la gráfica obtenida se muestra en la figura 14 donde se observa la tendencia lineal de los resultados, por lo que se aplicó el método de mínimos cuadrados para hallar una ecuación lineal que relaciona la cantidad de cromo total con la absorbancia.

Cuadro 23. Prueba de Kruskal-Wallis, absorbancia en función del día del método de determinación de Cr total por EAA.

	DIA	N	Rango promedio	Chi-cuadrado	Sig. asintótica
ABS	1	15	31,10	0,233	0,972
	2	15	30,77		
	3	15	28,67		
	4	15	31,47		
	Total	60			

Figura 14. Absorbancia de cromo total en función del nivel de concentración bajo condiciones de precisión intermedia del método de determinación de Cr total por EAA.



Se calcularon los valores para la pendiente, el intercepto, el coeficiente de correlación y sus correspondientes desviaciones estándar, obteniendo los resultados que se muestran en el cuadro 24.

Cuadro 24. Evaluación de la linealidad instrumental del método de determinación de Cr total por EAA.

PARAMETRO	SIMBOLO	VALOR
Coefficiente de Correlación	r	1,000
Pendiente	b	0,067
Intercepto	a	0,0004
Desviación Estándar intercepto	Sa	0,0026
Desviación Estándar pendiente	Sb	0,0005

El coeficiente de correlación se evaluó estadísticamente teniendo como Ho: “No existe correlación significativa entre x e y”. Como se observa en el cuadro 25, la prueba es significativa ($p=0,000$), por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que existe correlación altamente significativa entre la concentración y la respuesta brindada por el equipo (absorbancia) con un coeficiente de Pearson de 0.971.

Cuadro 25. Correlación de Pearson para evaluar linealidad de curvas del método de determinación de Cr total por EAA.

Correlaciones		Nivel de concentración	Absorbancia
Nivel de concentración	Correlación de Pearson	1	0,971(**)
	Sig. (bilateral)	.	0,000
	N	60	60
Absorbancia	Correlación de Pearson	0,971(**)	1
	Sig. (bilateral)	0,000	.
	N	60	60

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Para la evaluar estadísticamente la pendiente y el intercepto se tienen las siguientes hipótesis: Para la pendiente se tiene como H_0 : “b no es significativamente diferente de cero”, la cual se rechaza cuando la prueba estadística es significativa, es decir cuando sig. < 0,05. Para el intercepto se tiene como H_0 : “a no es significativamente diferente de cero”, la cual se rechaza cuando la prueba estadística es significativa, es decir cuando sig. < 0,05.

Como se observa en el cuadro 26, la significancia estadística tanto para la pendiente como para el intercepto son inferiores a 0,05, por lo que se deben rechazar las hipótesis nulas, y concluir que la pendiente y el intercepto son significativamente diferentes de cero.

Cuadro 26. Resultados obtenidos en la evaluación estadística de la pendiente y el intercepto de curvas de calibración de Cr total por EAA.

Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.	Intervalo de confianza para B al 95%	
		B	Error típ.	Beta			Límite inferior	Límite superior
1	Intercepto	-0,134	0,016		-8,431	0,000	-0,165	-0,102
	Pendiente	0,148	0,005	0,971	30,913	0,000	0,138	0,157

Mediante análisis de varianza (ANOVA) se evaluó estadísticamente la regresión en la curva de calibración, para evaluar la regresión se tiene hipótesis nula: “No hay regresión significativa en la curva de calibración ($R^2 = 0$)”, y como hipótesis alternativa “Hay regresión significativa en la curva de calibración ($R^2 \neq 0$)”. Como se observa en el cuadro 27, la significancia para la regresión es menor de 0,05 por lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alternativa, concluyendo que existe regresión significativa en la curva de calibración.

Cuadro 27. Análisis de varianza para evaluar la regresión lineal en la curva de calibración de Cr total mediante EAA.

Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	2,619	1	2,619	955,628	0,000(a)
	Residual	0,159	58	0,003		
	Total	2,778	59			

Los resultados obtenidos en las pruebas estadísticas para la evaluación de linealidad del método de determinación de Cr total por EAA, permiten concluir que el método instrumental empleado es lineal en el rango entre 1 y 10 mg.L⁻¹ de Cr, con un coeficiente de correlación equivalente 1,000.

6.2.2.2 Precisión instrumental del método de determinación de Cr total por EAA.

Se evaluó bajo condiciones de repetibilidad (el mismo día) y precisión intermedia (días diferentes). En condiciones de repetibilidad se prepararon 3 curvas de calibración con 5 niveles de concentración y un blanco las cuales se analizaron el mismo día bajo las mismas condiciones. Los resultados obtenidos se presentan en el cuadro 20.

Para el ensayo de precisión intermedia se prepararon curvas de calibración durante 4 días diferentes, tres curva de calibración por día, los resultados obtenidos se presentan en el cuadro 20. Se calculó el % C.V por nivel de concentración bajo condiciones de repetibilidad y precisión intermedia. Los resultados se presentan en el cuadro 28.

Cuadro 28. Precisión instrumental bajo condiciones de repetibilidad y precisión intermedia del método de determinación de Cr total por EAA.

NIVEL	REPETIBILIDAD		PRECISION INTERMEDIA	
	DESV. EST	% C.V	DESV. EST	% C.V
N1	0,002	2,193	0,003	4,648
N2	0,001	0,741	0,001	0,921
N3	0,001	0,369	0,003	1,207
N4	0,002	0,385	0,005	1,293
N5	0,002	0,227	0,003	0,516

Como se observa en el cuadro 28 los % C.V son inferiores al 5% siendo inferiores en términos de repetibilidad, permitiendo concluir que el método es preciso y altamente reproducible.

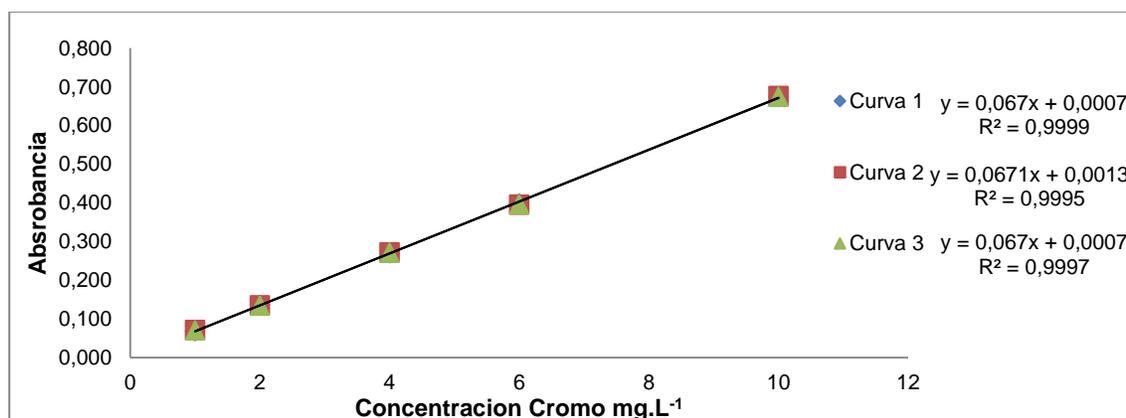
6.2.2.3 Limites críticos del método de determinación de Cr total por EAA.

Los límites de detección y cuantificación se determinaron teóricamente aplicando el método sugerido por la IUPAC (Swartz, 1997; Miller, 2000). Se prepararon 3 curvas las cuales se analizaron el mismo día, bajo las mismas condiciones (cuadro 29). Con los resultados obtenidos, se elaboró un gráfico que relaciona la absorbancia vs la concentración, el cual se ilustra en la figura 15.

Cuadro 29. Curvas de Cr VI bajo condiciones de repetibilidad del método de determinación de Cr total por EAA.

Nivel de concentración mg/L	Absorbancia de Cromo por EAA		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3
1	0,068	0,071	0,070
2	0,136	0,135	0,134
4	0,270	0,272	0,271
6	0,398	0,395	0,396
10	0,673	0,676	0,674

Figura 15. Curvas de Cr VI bajo condiciones de repetibilidad del método de determinación de Cr total por EAA.



Seguidamente, se calculó mediante el método de mínimos cuadrados la ecuación de las líneas de tendencia en cada curva, obteniendo de esta forma los interceptos y las pendientes para cada una de las tres curvas de calibración, con estos datos se determinó la desviación estándar de los interceptos (S_a) y el promedio de las pendientes (m_{prom}). Finalmente se aplicaron las ecuaciones 3 y 4 para establecer teóricamente los valores para el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ), los resultados se muestran en el cuadro 30.

Cuadro 30. Cálculo del límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ) del método de determinación de Cr total por EAA.

PARAMETRO	CURVA 1	CURVA 2	CURVA 3	S_a	Promedio m	LOD	LOQ
						(mg/L)	(mg/L)
Pendiente	0,067	0,0671	0,067	0,0035	0,067	0,0216	0,0722
Intercepto	0,0007	0,0013	0,0017				

Se denota que el límite de cuantificación es inferior al primer nivel de concentración, pero que es muy cercano al límite obtenido con UV-Vis, mostrando la ventaja de esta última técnica principalmente por costos.

6.2.2.4 Validación de la metodología de cromo total por EAA.

Para la validación de la metodología se evaluaron los parámetros linealidad, exactitud, precisión y límites críticos. Para la evaluación estadística de estos parámetros se empleó el software estadístico SPSS (Versión 11.5.1).

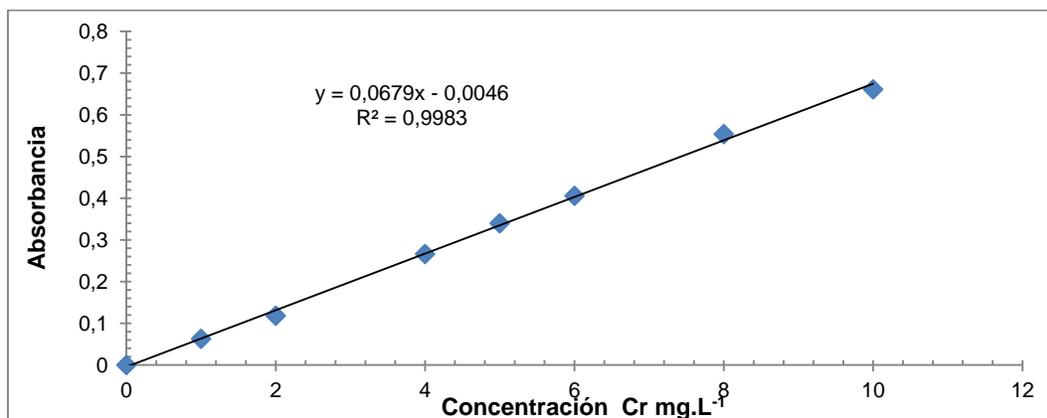
Linealidad. Correspondiente a la linealidad instrumental, por lo que se emplearon curvas de calibración sometidas a la metodología planteada.

Precisión y Exactitud. Se prepararon tres curvas de calibración durante 4 días diferentes, con todos los patrones establecidos anteriormente, los resultados obtenidos se presentan en el cuadro 20. Se determinó la precisión y exactitud de cada nivel de concentración interpolando en una curva de calibración preparada con un patrón primario (Titrisol) en el momento la respectiva lectura (cuadro 31, figura 16), los resultados obtenidos se presentan en el cuadro 31. Los % C. V obtenidos son inferiores al 10 % y los % R calculados se encuentran dentro del rango aceptado como óptimo (Arriola, 2012).

Cuadro 31. Curva calibración con patrón de titrisol.

Concentración mg.L ⁻¹	Absorbancia
0	0
1	0,063
2	0,118
4	0,266
5	0,340
6	0,406
8	0,554
10	0,661

Figura 16. Curva de calibración con patrón de titrisol.



Cuadro 32. Exactitud y precisión del método de determinación de Cr total por EAA.

NIVEL	Precisión intermedia		
	DESV. EST	% C.V	%R
N1	2.468	2.353	104.881
N2	0,906	0,890	101.816
N3	1,197	1,187	100.820
N4	1,277	1,279	99.845
N5	0,512	0,513	99,880

Con el fin de determinar la exactitud y precisión para la metodología global se aplicó la prueba estadística de homogeneidad de varianzas (Estadístico de Levene) entre los niveles con %R cercano o parecido (niveles entre 2 y 5), teniendo para ella como hipótesis nula que “El nivel de concentración no afecta la variabilidad en los porcentajes de recuperación”. Los resultados de esta prueba se muestran en el cuadro 33.

Cuadro 33. Prueba estadística de homogeneidad de varianzas para los niveles entre 2 y 5 del método de determinación de Cr total por EAA.

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Basándose en la media	4,417	3	44	0,008
Basándose en la mediana	2,385	3	44	0,082
Basándose en la mediana y con gl corregido	2,385	3	34,170	0,086
Basándose en la media recortada	4,339	3	44	0,009

Como se observa en el cuadro 33, la significancia estadística basándose en la media para el Estadístico de Levene es menor a 0,05, por lo que la prueba estadística es significativa y por lo tanto se rechaza la hipótesis nula, concluyendo que el nivel de concentración sí afecta la variabilidad en los % R obtenidos. Por lo tanto para cada nivel de concentración se debe tener en cuenta su porcentaje de recuperación, puesto que a concentraciones bajas hay mayor variación en los volúmenes tomados para la preparación de las curvas.

Por otro lado la significancia estadística basándose en la mediana para el Estadístico de Levene es mayor a 0,05 ($p= 0,082$), por lo que la prueba estadística no es significativa y por lo tanto se acepta la hipótesis nula, concluyendo que el nivel de concentración no afecta la variabilidad en los % R obtenidos. Esto permite calcular un % R_{prom} basándose en la mediana de los datos del porcentaje de recuperación entre los niveles 2-5 (cuadro 33) y un % C.V para la metodología entre estos mismos niveles, para el nivel 1 se deberá tener en cuenta el %R y %CV. Los resultados se muestran en el cuadro 34.

Cuadro 34. Exactitud y precisión para la metodología global en la determinación de cromo total por EAA con base en la mediana.

NIVEL	%R	Rprom	Desvesta	%CV
N1	104.881	101.45	2,082	2.053
N2	101.816			
N3	100.820			
N4	99.845			
N5	99,880			

Los % R obtenidos en base a la mediana y el %R promedio son aceptables, encontrándose dentro del intervalo normal (95%-105%), de igual forma los %CV son inferiores al 10%. La prueba de Tukey (cuadro 35) muestra que solamente el %R del nivel 1 es significativamente diferente al de los demás, por tanto consideramos que se puede aplicar un %R promedio para la metodología global y corresponde al 101.45%.

Cuadro 35. Valores prueba de Tukey del método de determinación de Cr total por EAA.

	NIVEL	N	% Recuperación		
			Subconjunto para alfa =0.05		
			1	2	3
HSD de Tukey(a,b)	6	12	99,84442		
	10	12	99,87975		
	4	12	100,82858	100,82858	
	2	12		101,81642	
	1	8			104,88125
	Sig.		0,415	0,411	1,000

6.3 DETERMINACIÓN DE CROMO TOTAL EN LAS FRACCIONES DE ÁCIDOS FÚLVICOS MEDIANTE EAA

Este procedimiento fue realizado, para verificar la verdadera concentración de cromo suministrado a las FAF de bosque (FAFB) y cultivo (FAFC). La concentración se determinó en tres días diferentes: día 0, día 3 y día 5, por triplicado de acuerdo a la metodología 5.4. Los resultados obtenidos se muestran en el cuadro 36

De acuerdo a estos, se aplica la prueba de normalidad para los datos de concentración de Cr determinada en el EAA para la FAFB en función del nivel suministrado, encontrando que para todos los niveles la $p > 0.05$ por lo tanto los datos pertenecen a una distribución normal (cuadro 90, anexo B).

Cuadro 36. Cromo total en las fracciones de ácidos fúlvicos para las diferentes dosis suministradas y en los diferentes días de determinación.

Concentración suministrada de Cr VI mgL ⁻¹	Día de determinación					
	Concentración de Cr leído (real) en el EAA en Cr mgL ⁻¹					
	AFB			AFC		
	0	3	5	0	3	5
0.0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
0,5	0,535	0,506	0,520	0,503	0,501	0,499
	0,491	0,520	0,491	0,491	0,504	0,504
	0,506	0,491	0,448	0,502	0,500	0,498
1	1,042	1,028	1,013	1,077	1,064	1,102
	1,100	1,042	0,970	1,102	1,064	1,026
	1,057	0,984	0,955	1,090	1,077	1,115
2	1,999	2,071	1,941	2,108	2,082	2,019
	1,984	2,143	1,955	2,095	2,133	2,019
	1,999	1,999	1,970	2,082	2,070	2,070
4	4,028	4,013	4,071	4,094	4,005	4,055
	4,028	3,983	4,042	4,106	4,081	4,068
	4,012	3,999	4,057	4,081	3,992	4,094
8	8,187	8,173	8,201	8,091	8,040	8,205
	8,202	8,203	8,274	8,078	8,065	8,180
	8,216	8,216	8,187	8,065	8,091	8,129
10	9,852	9,888	9,852	10,120	10,052	10,170
	9,924	9,707	9,960	10,170	10,016	10,139
	9,888	9,996	9,888	10,139	10,084	10,102
20	20,283	20,500	20,210	20,086	20,277	20,341
	20,355	20,428	20,210	20,023	20,595	20,277
	20,138	20,283	19,993	19,959	20,341	20,341
40	41,145	40,855	41,435	39,918	40,555	40,427
	41,435	41,580	40,855	40,045	40,682	40,682
	41,580	41,290	42,450	40,173	40,809	40,555
60	61,290	60,566	61,000	60,030	60,794	60,921
	60,421	61,290	61,290	60,157	60,666	60,666
	60,566	61,000	61,145	59,903	60,539	60,794
80	82,573	82,573	83,660	80,065	79,747	79,747
	84,385	84,747	83,298	80,384	80,702	81,656
	83,298	84,022	83,660	79,747	81,020	81,338
100	102,501	103,588	103,225	100,750	100,113	100,113
	104,312	104,312	103,950	100,113	100,750	100,750
	106,486	104,675	102,863	100,432	101,386	100,432

Seguidamente, se aplica la prueba t de medias para contrastar las medias poblacionales con el valor suministrado, en todos los casos se encuentra que no existe diferencia significativa entre la dosis suministrada y la leída por EAA, por lo tanto concluimos que la cantidad de dosis suministrada es igual a la cantidad de dosis leída (cuadro 37).

Cuadro 37. Prueba t de la dosis encontrada (real) en función de la dosis suministrada en la FAFB.

	Dosis suministrada Cr mgL ⁻¹	Valor de prueba	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
							Inferior	Superior
Dosis encontrada Cr mgL ⁻¹	0.5	0.501	-0,013	8	0,990	-0,0001	-0,019	0,019
	1	1.021	0,015	8	0,989	0,0002	-0,035	0,036
	2	2.007	-0,011	8	0,992	-0,0002	-0,049	0,048
	4	4.026	-0,012	8	0,991	-0,0001	-0,022	0,021
	8	8.207	-0,046	8	0,964	-0,0004	-0,023	0,022
	10	9.884	-0,004	8	0,997	-0,0001	-0,063	0,063
	20	20.267	-0,007	8	0,995	-0,0003	-0,118	0,117
	40	41.403	-0,001	8	0,999	-0,0002	-0,369	0,369
	60	60.952	0,000	8	1,000	0,0000	-0,267	0,267
	80	83.580	-0,002	8	0,999	-0,0004	-0,571	0,570
100	103.990	0,001	8	1,000	0,0002	-0,907	0,907	

Se aplicaron las mismas pruebas para la FAFC encontrándose que los datos provienen de una distribución normal $p > 0.05$ para todos los niveles (cuadro 91, anexo B). Al aplicar la prueba t se obtiene al igual que para la FAFB que las dosis encontradas son equivalentes a las dosis suministradas (cuadro 38). De acuerdo a esto se asumen para ambas FAF al momento de calcular la cantidad retenida, que la cantidad de Cr en la muestra es igual a la dosis suministrada.

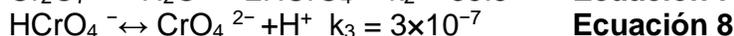
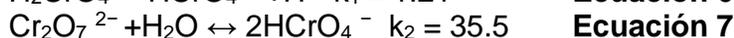
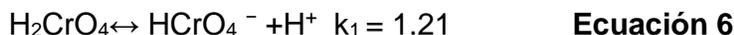
Cuadro 38. Prueba t de la dosis encontrada (real) en función de la dosis suministrada en el FAFC.

	Dosis suministrada Cr VI mg.L ⁻¹	Valor de prueba	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
							Inferior	Superior
Dosis encontrada Cr VI mg.L ⁻¹	0.5	0.500	0,164	8	0,873	0,0002	-0,003	0,003
	1	1.08	-0,037	8	0,971	-0,0003	-0,021	0,020
	2	2.075	0,027	8	0,979	0,0003	-0,029	0,029
	4	4.064	0,000	8	1	0,0000	-0,031	0,032
	8	8.105	-0,006	8	0,995	-0,0001	-0,043	0,043
	10	10,110	0,013	8	0,990	0,0002	-0,040	0,040
	20	20.249	-0,002	8	0,999	-0,0001	-0,151	0,151
	40	41.427	0,003	8	0,998	0,0003	-0,239	0,240
	60	60.497	-0,003	8	0,998	-0,0003	-0,286	0,285
	80	80,490	-0,002	8	0,999	-0,0004	-0,561	0,560
100	100,538	-0,002	8	0,998	-0,0003	-0,324	0,323	

6.4 DETERMINACIÓN DEL CROMO VI RETENIDO EN LAS FRACCIONES DE ÁCIDOS FÚLVICOS

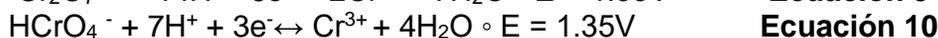
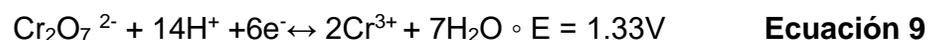
Los altos contenidos de MOH en el suelo permiten que el cromo pueda enlazarse con grupos carboxílicos y fenólicos, dando como resultado una alta afinidad.

Complejantes naturales como ácidos húmicos y fúlvicos forman complejos organo-minerales, altamente reactivos cuando recubren a partículas minerales de arcilla con su capa orgánica polianiónica, aumentando la capacidad de adsorción de metales como el Cr (Bradl, 2004). De igual manera el cromo puede enlazarse a ácidos orgánicos formando complejos solubles que incrementan la movilidad del metal en el suelo en comparación con su forma libre. Esto se ve influenciado por el pH en el que se encuentre el suelo o la fracción fulvica, los AF son solubles en todo rango de pH. Los AF obtenidos en esta investigación se encuentran en pH ácido, pH 2, razón por la cual están altamente protonados, permitiendo la retención de las diferentes formas de Cr VI: H_2CrO_4^- ; HCrO_4^- ; CrO_4^{2-} ; HCr_2O_7^- ; $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ existentes en este medio, de acuerdo a las ecuaciones 6,7 y 8 en donde predominan las formas HCrO_4^- y $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$. Por lo tanto, la gran cantidad de Cr (VI) retenido en los AF podría explicarse mediante la atracción electrostática entre los grupos cargados positivamente con sitios protonados y las diferentes formas del Cr, (Miretzky, P., 2010).



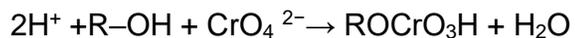
Otra posible razón para la adsorción de Cr (VI) podría ser la reducción de Cr (VI) a Cr (III) en medio ácido, (ec 9 y 10), producto del contacto con los grupos donadores de electrones de la FAF que tienen valores de potencial de reducción más baja que el de Cr (VI). Los iones de Cr (III) permanecen en la solución acuosa o forman complejos con los AF presentes.

A pH: 2,0-4,0

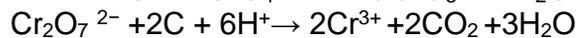


Además la reducción del Cr (VI) puede darse por mecanismo de reducción indirecta, que consiste en 3 etapas: (a) la unión del Cr (VI) aniónico a los grupos cargados positivamente en la superficie de la FAF tales como grupos amino y carboxilo, (b) reducción de Cr (VI) a Cr (III) por grupos donadores de electrones adyacentes y (c) liberación de Cr (III) en la fase acuosa debido a la repulsión entre Cr cargado positivamente (III) y los grupos cargados positivamente en la superficie de material, o la formación de complejos de Cr (III) con grupos adyacentes. (Miretzky, P., 2010). En las FAF (figura 17) se aprecia la presencia de grupos donadores de electrones tales

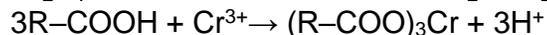
como los ácidos carboxílicos, metoxi, grupos carbonilo y fenoles, que producen la reducción del Cr VI (Dupont, L. y Guillon, E., 2003), la complejación podría suceder a con estos mismos grupos de acuerdo a las ecuaciones 11,12 y 13 (Ying, Li *et al*, 2008):



Ecuación 11

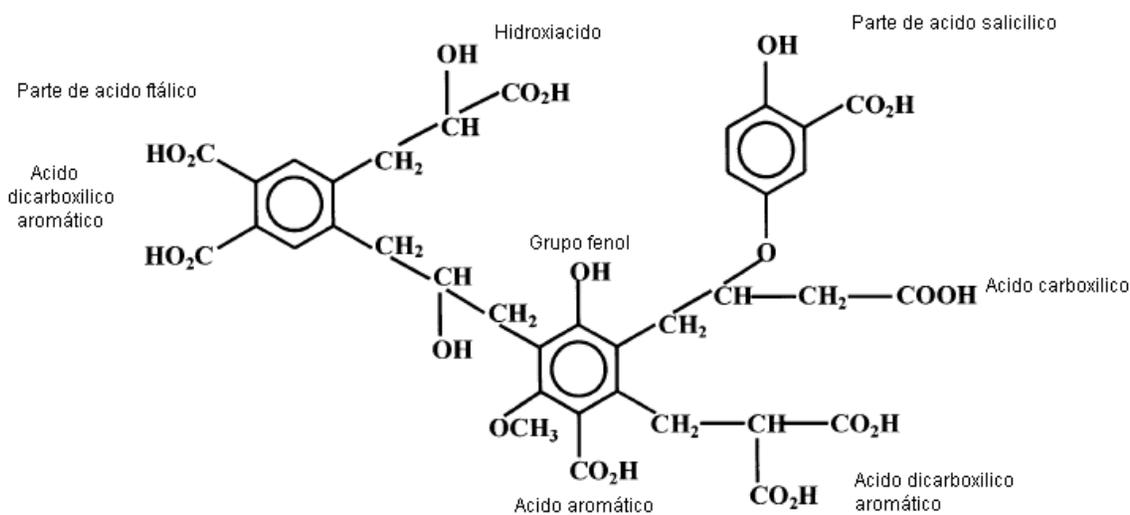


Ecuación 12



Ecuación 13

Figura 17. Grupos donadores de electrones en los AF (Bases de Lewis).



El Cr total presente en las FAF es igual a la dosis de Cr VI suministrado, si se tiene en cuenta los estudios realizados por Kumar *et al*, 2008) que demuestran que en solución acuosa, la cantidad de Cr total y Cr (VI) a pH bajo es aproximadamente la misma, indicando que la presencia de Cr (III) en la solución es insignificante y por tanto no se presentaría el fenómeno de la reducción. Como consecuencia, el mecanismo más apropiado para explicar la retención de Cr (VI) sobre la superficie de las FAF es por atracción electrostática.

6.4.1 Cromo VI retenido en la Fracción de Ácido Fúlvico de Bosque

Inicialmente se valoró la cantidad de Cr(VI) retenido en la FAFB a partir de 11 niveles suministrados durante un período de incubación de 3 días diferentes, los valores obtenidos fueron calculados de acuerdo a la ecuación 1, para expresarlos como mgCr.kgFAF⁻¹ empleando la densidad de la FAFB (1.026 g.mL⁻¹). Los datos se presentan en el cuadro 39 y en las figuras 18, 19 y 20.

Cuadro 39. Valores encontrados en la FAFB en relación al día y a la concentración del Cr VI retenido.

Concentración suministrada de Cr VI		Día					
		cantidad de Cr VI retenido en la FAFB					
		mgL ⁻¹			mgCr.kgFAF ⁻¹		
mgL ⁻¹	mgCr.kgFAF ⁻¹	0	3	5	0	3	5
0,5	0.49	0,5	0,5	0,5	0,49	0,49	0,49
		0,5	0,5	0,5	0,49	0,49	0,49
		0,5	0,5	0,5	0,49	0,49	0,49
1	0.97	1,00	1,00	1,00	0,97	0,97	0,97
		1,00	1,00	1,00	0,97	0,97	0,97
		1,00	1,00	1,00	0,97	0,97	0,97
2	1.95	2,00	2,00	2,00	1,95	1,95	1,95
		2,00	2,00	2,00	1,95	1,95	1,95
		2,00	2,00	2,00	1,95	1,95	1,95
4	3.90	4,00	4,00	4,00	3,90	3,90	3,90
		4,00	4,00	4,00	3,90	3,90	3,90
		4,00	4,00	4,00	3,90	3,90	3,90
8	7.80	8,00	8,00	8,00	7,80	7,80	7,80
		8,00	8,00	8,00	7,80	7,80	7,80
		8,00	8,00	8,00	7,80	7,80	7,80
10	9.75	10,00	10,00	10,00	9,75	9,75	9,75
		10,00	10,00	10,00	9,75	9,75	9,75
		10,00	10,00	10,00	9,75	9,75	9,75
20	19.49	19,87	20,00	20,00	19,36	19,49	19,49
		19,74	20,00	20,00	19,24	19,49	19,49
		19,74	20,00	20,00	19,24	19,49	19,49
40	38.99	18,89	40,00	40,00	18,42	38,99	38,99
		18,69	40,00	40,00	18,21	38,99	38,99
		18,48	40,00	40,00	18,01	38,99	38,99
60	58.48	31,99	53,33	60,00	31,17	51,98	58,48
		31,57	53,33	60,00	30,77	51,98	58,48
		31,57	52,09	60,00	30,77	50,78	58,48
80	77.97	33,35	59,20	67,80	32,50	57,70	66,08
		34,19	55,93	65,53	33,32	54,51	63,87
		36,28	56,54	65,98	35,36	55,11	64,31
100	97.47	28,89	51,04	67,87	28,16	49,75	66,15
		30,15	51,86	64,23	29,39	50,54	62,60
		31,83	50,63	64,23	31,02	49,35	62,60

En la figura 18, se aprecian dos tendencias en la retención de Cr por la FAFB respecto al tiempo, la primera muestra que para las dosis de 0.49 a 19,49 mgCr.kgFAF⁻¹ se retiene totalmente y a partir del tiempo cero (Primer día), mientras que la otra revela que a dosis superiores el Cr (VI) no se retiene completamente desde el primer día y que la retención incrementa con el tiempo. Separando las dos tendencias en las figuras 19 y 20, se evidencia que la retención es completa para dosis bajas (hasta 19,49 mgCr.kgFAF⁻¹). En la figura 20 se confirma que a partir de 38,99 mgCr.kgFAF⁻¹ la cantidad de Cr retenida incrementa con la dosis y con el día de incubación.

Figura 18. Retención de Cr VI en la FAFB en función del día.

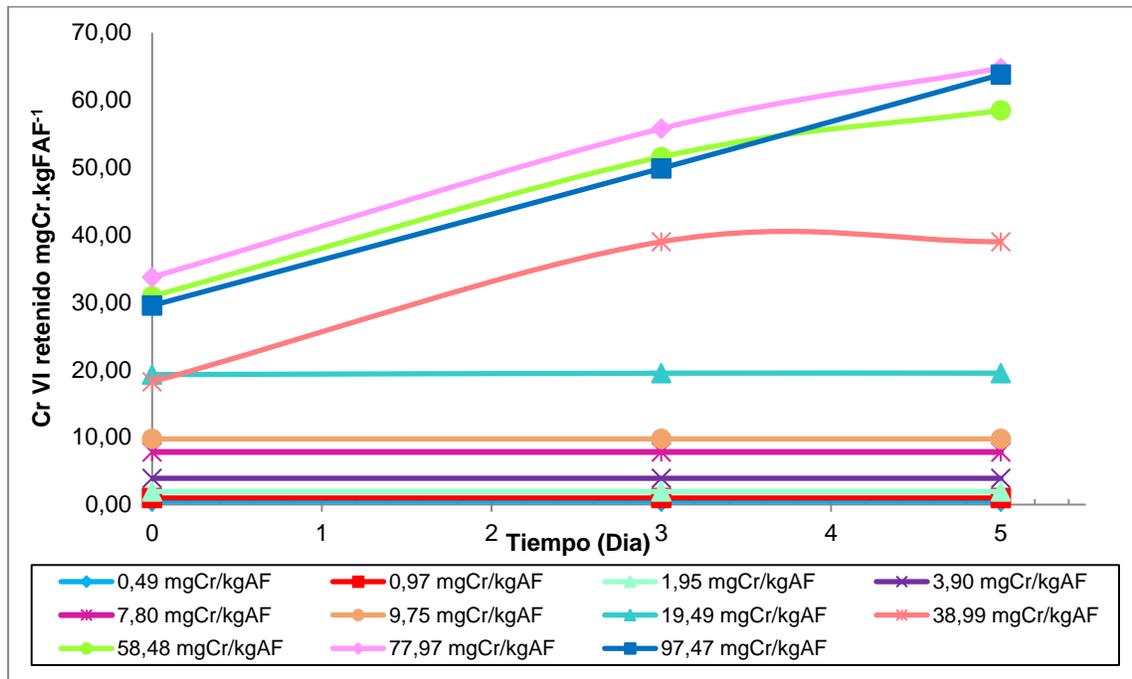


Figura 19. Retención de Cr VI en la FAFB en función del día entre 0.49-19,49 mgCr.kgFAF⁻¹.

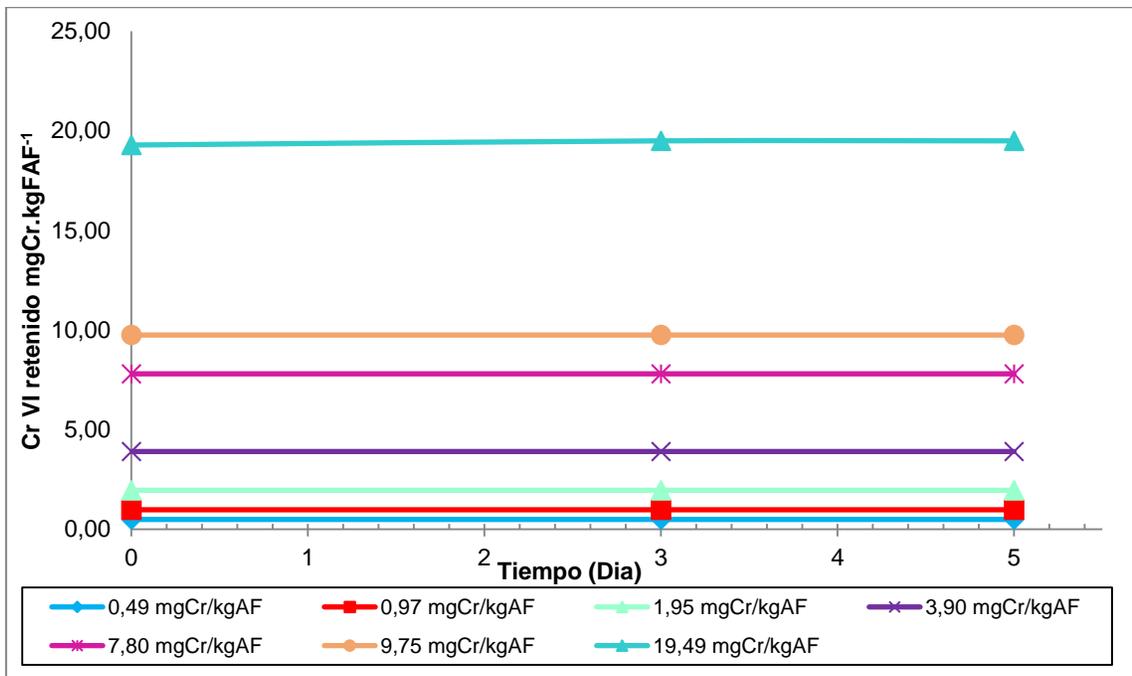
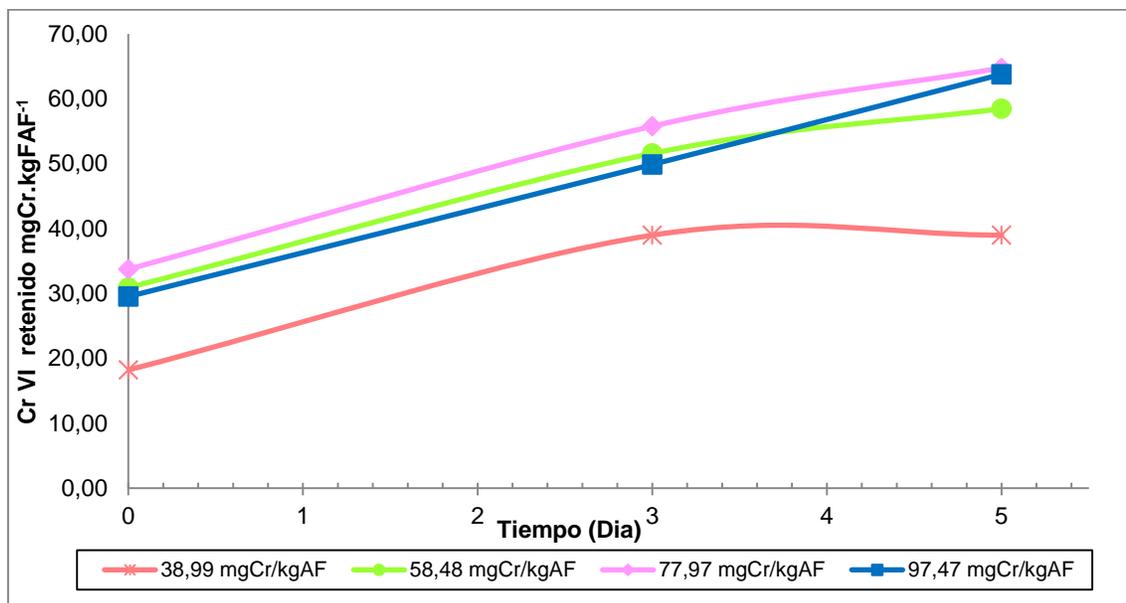


Figura 20. Retención de Cr VI en la FAFB en función del día entre 38,99-97,47 mgCr.kgFAF⁻¹.



La prueba de Kruskal-Wallis o de distribución libre (cuadro 40) confirma que no existe diferencia significativa en la cantidad de Cr VI retenido en los niveles de 0.49-19,49 mgCr.kgFAF⁻¹ en función del día, indicando que a dosis bajas la retención ocurre desde el mismo momento en que se suministra y demuestra la presencia de sitios activos libres para tal retención (figura 19),

Cuadro 40. Prueba de Kruskal-Wallis de cromo retenido en función del día, para el rango de 0.49-19,49 mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFB.

	Tiempo de complejación	N	Rango promedio	Chi-cuadrado	Sig. asintótica
Cr VI retenido (mgCr.KgFAF ⁻¹)	0	21	31,57	0,018	0,991
	3	21	32,21		
	5	21	32,21		
	Total	63			

Variable de agrupación: tiempo de complejación

Mientras que en el rango de 38,99-97,47 mgCr.kgFAF⁻¹ de Cr suministrado, la cantidad de Cr retenido por la FAFB para cada dosis depende del día de incubación (cuadro 41) ($p < 0.05$). Posiblemente a altas dosis los sitios activos de la FAFB se encuentran ocupados por otros metales como Ca, Mg Fe, y Al y es necesario tiempo para ser desplazados paulatinamente por el Cr suministrado, como se describirá más adelante en estas FAF se encontraron cantidades altas principalmente de Fe y Al. Estudios realizados por Gupta y Babu, 2009 demuestran que a mayor dosis de Cr VI

suministrado a material lignolítico (aserrín) es necesario mayor tiempo para incrementar su retención. La prueba de U de Mann-Whitey (cuadro 42), revela que entre los días 0-3, 0-5 y 3-5 existe diferencia significativa en la cantidad de Cr VI, comprobando que la retención va ocurriendo paulatinamente.

Cuadro 41. Prueba de Kruskal-Wallis de cromo retenido en función del día, para el rango de 38,99-97,47 mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFB.

	Tiempo de complejación	N	Rango promedio	Chi-cuadrado	Sig. asintótica
Cr VI retenido (mgCr.KgFAF ⁻¹)	0	12	6,50	25,954	0,000
	3	12	21,13		
	5	12	27,88		
	Total	36			

Variable de agrupación: tiempo de complejación

Cuadro 42. Prueba de U de Mann-Whitney de Cr VI retenido en función del día para los niveles entre 38,99-97,47 mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFB.

	Tiempo de complejación	N	Rango promedio	U de Mann-Whitney	Sig. asintótica (bilateral)
Cr VI retenido (mg.kgFAF ⁻¹)	0	12	6,50	0,000	0,000
	3	12	18,50		
	0	12	6,50	0,000	0,000
	5	12	18,50		
	3	12	9,13	31,500	0,018
	5	12	15,88		

Variable de agrupación: tiempo de complejación

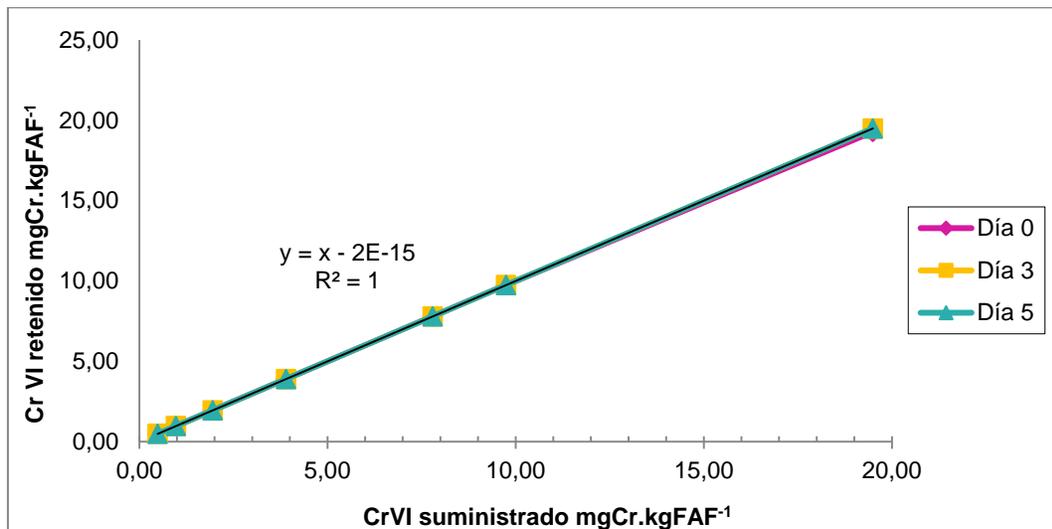
En el cuadro 43, se observa que la cantidad de Cr retenida es superior en el día 5 demostrando una vez más que la retención a partir de dosis altas ocurre en forma paulatina posiblemente por el desplazamiento de otros metales presentes en los sitios activos.

Cuadro 43. Valores de medias de Cr VI retenido en función del tiempo de complejación, en el rango de 38,99-97,47 mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFB.

Tiempo de complejación	Cr VI retenido mgCr.KgFAF ⁻¹		
	Media	N	Desv. típ.
0	28,092	12	6,227
3	49,056	12	6,522
5	56,502	12	10,897
Total	44,550	36	14,549

Considerando el nivel de Cr VI suministrado en la retención de Cr VI en la FAFB, (cuadro 39), en el rango de 0.49-19,49 mgCr.kgFAF⁻¹ la cantidad de Cr VI retenido es directamente proporcional al suministrado (figura 21) como se deduce de la ecuación de la recta con un alto coeficiente de correlación, demostrando que hasta esta dosis no hay saturación de los sitios activos. La prueba de Kruskal-Wallis (cuadro 44) confirma que en este rango, existe diferencia significativa entre el Cr VI retenido a partir de las diferentes dosis de Cr VI suministrado, la prueba de U de Mann-Withney (cuadro 45) muestra que la cantidad de Cr VI retenido difiere significativamente para todas las dosis, lo que se demuestra con la prueba de medias, en la que se aprecia una vez más la proporcionalidad directa entre la cantidad de Cr retenido y el Cr suministrado, con retención completa en cada una de las dosis (cuadro 46).

Figura 21. Retención de Cr VI en FAFB en función del Cr VI suministrado entre 0.49-19,49 mgCr.kgFAF⁻¹.



Cuadro 44. Prueba de Kruskal-Wallis de Cr VI retenido en función del Cr VI suministrado, para el rango de 0.49-19,49 mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFB.

	Nivel de Cr VI suministrado mg.KgFAF ⁻¹	N	Rango promedio	Chi-cuadrado	Sig. asintótica
Cr VI retenido mg.KgFAF ⁻¹	0,49	9	5,00	61,873	0,000
	0,97	9	14,00		
	1,95	9	23,00		
	3,90	9	32,00		
	7,80	9	41,00		
	9,75	9	50,00		
	19,49	9	59,00		
	Total	63			

Variable de agrupación: Nivel de Cr suministrado (mgCr.KgFAF⁻¹)

Cuadro 45. Prueba de U de Mann-Whitney de Cr VI retenido en función del nivel de Cr VI suministrado, para el rango de 0.49-19,49 mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFB.

Cr VI retenido (mgCr.KgFAF ⁻¹) en el FAFB dopado con	Nivel de Cr VI suministrado (mgCr.KgFAF ⁻¹)	N	U de Mann-Whitney	Sig. asintótica (bilateral)
0.49	0,97	9	0,000	0,000
	1,95	9	0,000	0,000
	3,90	9	0,000	0,000
	7,80	9	0,000	0,000
	9,75	9	0,000	0,000
0,97	19,49	9	0,000	0,000
	1,95	9	0,000	0,000
	3,90	9	0,000	0,000
	7,80	9	0,000	0,000
	9,75	9	0,000	0,000
1,95	19,49	9	0,000	0,000
	3,90	9	0,000	0,000
	7,80	9	0,000	0,000
	9,75	9	0,000	0,000
3,90	19,49	9	0,000	0,000
	7,80	9	0,000	0,000
	9,75	9	0,000	0,000
7,80	19,49	9	0,000	0,000
	9,75	9	0,000	0,000
9,75	19,49	9	0,000	0,000

Variable de agrupación: Nivel de Cr suministrado (mgCr.KgFAF⁻¹)

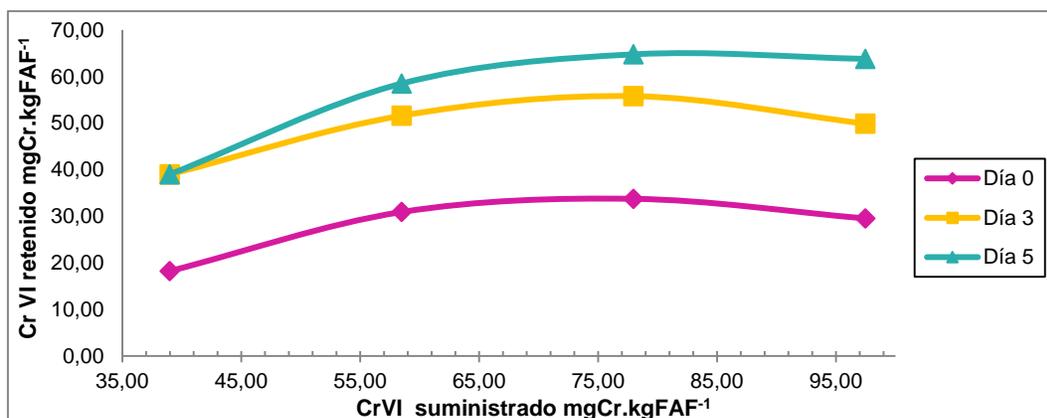
Cuadro 46. Valores de medias de Cr VI retenido en función del Cr VI suministrado, para el rango de 0.49-19,49 mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFB.

Nivel de Cr VI suministrado (mgCr.KgFAF ⁻¹)	Cr VI retenido (mgCr.KgFAF ⁻¹)		
	Media	N	Desv. típ.
0,49	0,490	9	0,000
0,97	0,970	9	0,000
1,95	1,950	9	0,000
3,90	3,900	9	0,000
7,80	7,800	9	0,000
9,75	9,750	9	0,000
19,49	19,420	9	0,111
Total	6,326	63	6,297

Por el contrario, la cantidad de Cr VI retenido en el rango de 38,99-97,47 mgCr.kgFAF⁻¹ (figura 22) incrementa proporcionalmente con la dosis pero sin ajustar a una línea recta, presentándose una tendencia a la saturación en 58.48 mgCr.kgFAF⁻¹. La prueba de Kruskal-Wallis ratifica que no existe diferencia significativa en la cantidad de Cr retenida a partir de este rango de dosis (cuadro 47) debido a que los sitios de formación de complejos ya empiezan a saturarse, teniendo como máxima concentración de saturación la de 58.48 mgCr.kgFAF⁻¹ (figura 22) y con la prueba de

medias se confirma lo expresado anteriormente (cuadro 48). Resultados similares encontraron Sharma, D. y Forster, C., 1994 en la retención de Cr VI sobre bagazo (material lignocelulítico de residuos agrícolas que tiene una estructura química muy similar a la de los AF), donde el incremento en la cantidad de Cr VI suministrado produjo incremento en la cantidad retenida hasta encontrar un punto de saturación, sugiriendo que el adsorbente tenía un número limitado de sitios de retención.

Figura 22. Retención de Cr VI en la FAFB en función del Cr VI suministrado entre 38,99-97,47 mgCr.kgFAF⁻¹.



Cuadro 47. Prueba de Kruskal-Wallis de Cr VI retenido en función del Cr VI suministrado, para el rango de 38,99-97,47 mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFB.

	Nivel de Cr VI suministrado mgCr.KgFAF ⁻¹	N	Rango promedio	Chi-cuadrado	Sig. asintótica
Cr VI retenido mgCr.KgFAF ⁻¹	38,99	9	11,00	6,986	0,072
	58,48	9	19,78		
	77,97	9	23,67		
	97,47	9	19,56		
	Total	36			

Variable de agrupación: Nivel de Cr suministrado (mgCr.KgFAF⁻¹)

Cuadro 48. Valores de medias de Cr VI retenido en función del Cr VI suministrado, para el rango de 38,99-97,47 mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFB.

Nivel de Cr VI suministrado (mgCr.KgFAF ⁻¹)	Cr VI retenido (mgCr.KgFAF ⁻¹)		
	Media	N	Desv. típ.
38,99	32,064	9	10,389
58,48	46,988	9	12,433
77,97	51,418	9	13,884
97,47	47,729	9	14,978
Total	44,550	36	14,549

6.4.1.1 Porcentaje de retención de Cr VI en la FAFB en función del tiempo y el nivel suministrado.

El porcentaje de retención de Cr VI en la FAFB se calculó de acuerdo a la *ecuación 2*. Los datos obtenidos se presentan en el cuadro 49 y figuras 23 y 24 en las que se muestran los % Retención respecto a la dosis suministrada de Cr VI y al día de incubación.

Cuadro 49. Valores encontrados en la FAFB en relación al día y al % Cr VI retenido.

Concentración suministrada de Cr VI		% Retención de Cr VI retenido en la FAFB		
		Día		
mgL ⁻¹	mgCr.kgFAF ⁻¹	0	3	5 0
0,5	0.49	100,00	100,00	100,00
		100,00	100,00	100,00
		100,00	100,00	100,00
1	0.97	100,00	100,00	100,00
		100,00	100,00	100,00
		100,00	100,00	100,00
2	1.95	100,00	100,00	100,00
		100,00	100,00	100,00
		100,00	100,00	100,00
4	3.90	100,00	100,00	100,00
		100,00	100,00	100,00
		100,00	100,00	100,00
8	7.80	100,00	100,00	100,00
		100,00	100,00	100,00
		100,00	100,00	100,00
10	9.75	100,00	100,00	100,00
		100,00	100,00	100,00
		100,00	100,00	100,00
20	19.49	99,34	100,00	100,00
		98,71	100,00	100,00
		98,71	100,00	100,00
40	38.99	47,24	100,00	100,00
		46,71	100,00	100,00
		46,19	100,00	100,00
60	58.48	53,31	88,88	100,00
		52,61	88,88	100,00
		52,61	86,83	100,00
80	77.97	41,69	74,01	84,75
		42,73	69,91	81,91
		45,35	70,68	82,48
100	97.47	28,89	51,04	67,87
		30,15	51,86	64,23
		31,83	50,63	64,23

Igualmente se aprecian dos tendencias una para el rango de 0.49-9.75 mgCr.kgFAF⁻¹ (figura 23) y la otra para el rango de 19.49-97,47 mgCr.kgFAF⁻¹ (figura 24). En el primer rango, se observa que el porcentaje de retención de Cr VI es independiente del tiempo, pues es retenido el 100% de lo suministrado desde el día cero, demostrando

nuevamente alto número de sitios activos capaces de retener todo el Cr suministrado. Mientras que en el rango de 19,49-97,47 mgCr.kgFAF⁻¹, el % Cr VI retenido aumenta paulatinamente (figura 24), demostrando la dificultad del Cr (VI) para entrar a desplazar sitios ya ocupados probablemente por otros metales como se manifestó anteriormente.

Figura 23. Porcentaje de Cr VI retenido en la FAFB en función del día entre 0,49-9,75 mgCr.KgFAF⁻¹.

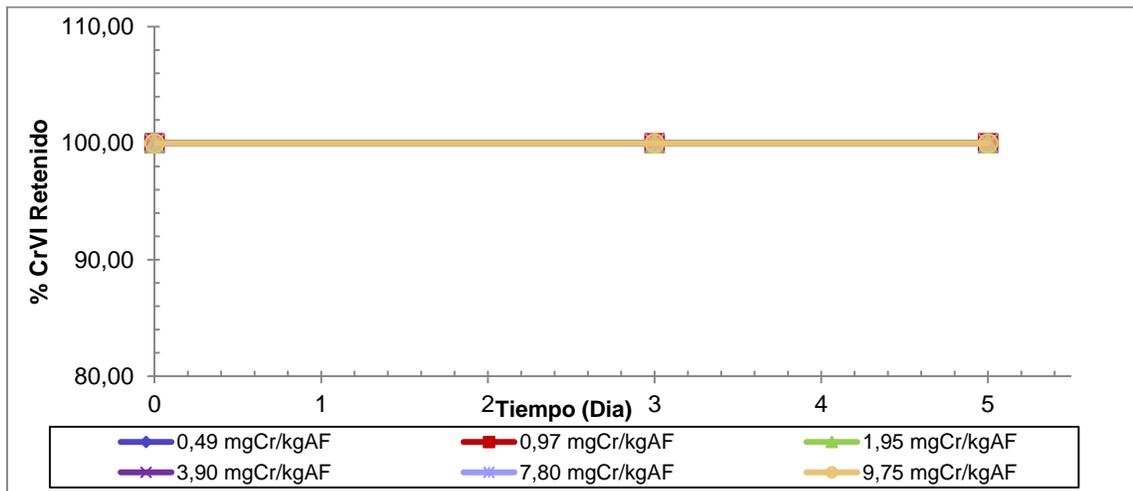
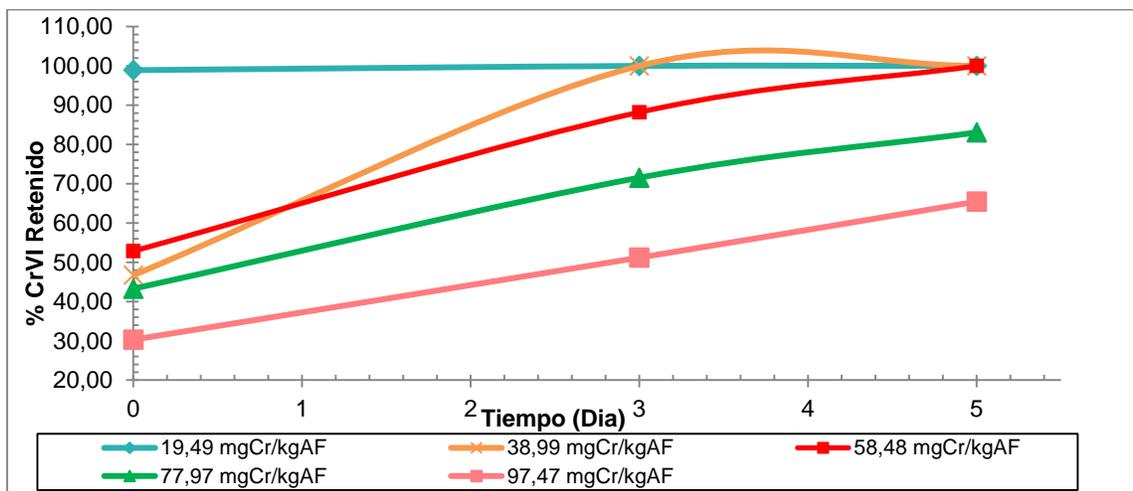


Figura 24. Porcentaje de Cr VI retenido en la FAFB en función del día entre 19,49-97,47 mgCr.KgFAF⁻¹.



La prueba de Kruskal-Wallis, indica que no existe diferencia significativa (cuadro 50) en el % retención de Cr VI en el rango de 0,49-9,75 mgCr.kgFAF⁻¹ en función del tiempo corroborando la figura 23, evidenciando una vez más que a dosis inferiores a 9,75 mgCr.kgFAF⁻¹ la FAFB forma complejos con este metal y lo retiene en un 100% desde el día cero.

Cuadro 50. Prueba Kruskal-Wallis de porcentaje Cr VI retenido en función del día, para el rango de 0,49-9,75 mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFB.

	Tiempo de complejación	N	Rango promedio	Chi-cuadrado	Sig. asintótica
% Cr VI Retenido	0	18	27,50	0,000	1,000
	3	18	27,50		
	5	18	27,50		
	Total	54			

Variable de agrupación: tiempo de complejación

En tanto que, la prueba de Kruskal-Wallis para el % retención de Cr correspondiente al rango 19,49-97,47mgCr.kgFAF⁻¹ (cuadro 51) muestra diferencia significativa entre el %Retención de Cr VI para los diferentes días de incubación, la prueba de U de Mann-Whitey (cuadro 52), indica que esta diferencia se presenta entre los días 0-3 y 0-5, sin diferencia significativa entre los días 3-5, lo que se corrobora con la prueba de medias (cuadro 53), siendo el %Retención Cr VI de los días 3-5 superior, revelando que el % retención se estabiliza a partir del día 3.

Cuadro 51. Prueba Kruskal-Wallis de porcentaje Cr VI retenido en función del día, para el rango de 19,49-97,47mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFB.

	Tiempo de complejación	N	Rango promedio	Chi-cuadrado	Sig. asintótica
% Cr VI Retenido	0	15	11,60	18,402	0,000
	3	15	26,00		
	5	15	30,80		
	Total	45			

Variable de agrupación: tiempo de complejación

Cuadro 52. Prueba de U de Mann-Whitney de porcentaje Cr VI retenido en función del día para los niveles entre 19,49-97,47mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFB.

	Tiempo de complejación	N	Rango promedio	U de Mann-Whitney	Sig. asintótica (bilateral)
% Cr VI Retenido	0	15	10,40	36,000	0,001
	3	15	20,60		
	0	15	9,20	18,000	0,000
	5	15	21,81		
	3	15	14,00	90,000	0,318
	5	15	17,00		

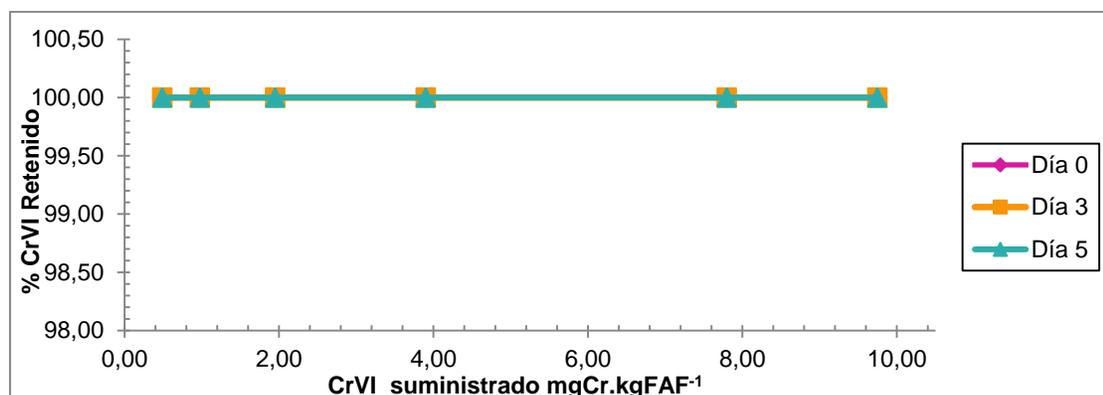
Variable de agrupación: tiempo de complejación

Cuadro 53. Valor de medias de porcentaje de Cr VI retenido en función del tiempo de complejación en el rango de 19,49-97,47mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFB.

% Cr VI Retenido			
Tiempo de complejación	Media	N	Desv. típ.
0	54,405	15	24,289
3	82,181	15	19,366
5	89,698	15	14,308
Total	75,428	45	24,654

Considerando la dosis de Cr VI suministrado en el %Retención de Cr VI en la FAFB, (cuadro 49), para el rango de 0,49-9,75 mgCr.kgFAF⁻¹ se evidencia que aun en estas dosis no hay saturación de los sitios activos y por tal motivo se da la retención total (100%) del Cr VI suministrado (figura 25). La prueba de Kruskal-Wallis demuestra que no existe diferencia en el %retención de las dosis suministradas en este rango (cuadro 54), ratificando que la retención completa del Cr VI suministrado se da a partir del día cero.

Figura 25. Porcentaje de Cr VI retenido en la FAFB en función del Cr VI suministrado, rango 0,49-9,75 mgCr.kgFAF⁻¹.



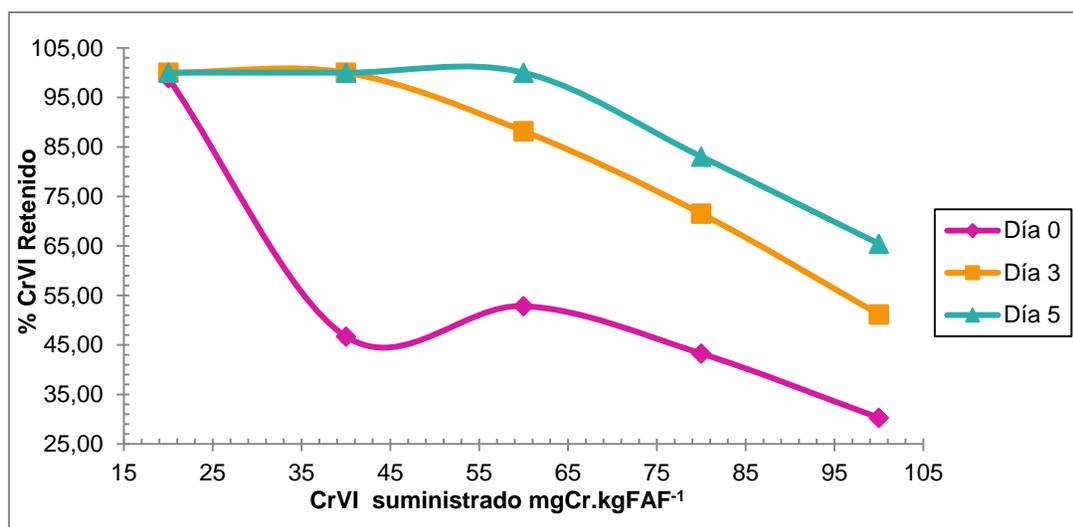
Cuadro 54. Prueba de Kruskal-Wallis de porcentaje de Cr VI retenido en función del Cr VI suministrado, para el rango de 0,49-9,75 mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFB.

	Nivel de Cr VI suministrado (mgCr.KgFAF ⁻¹)	N	Rango promedio	Chi-cuadrado	Sig. asintótica
% Cr VI Retenido	0,49	9	27,50	0,000	1,000
	0,97	9	27,50		
	1,95	9	27,50		
	3,90	9	27,50		
	7,80	9	27,50		
	9,75	9	27,50		
	Total	54			

Variable de agrupación: Nivel de Cr suministrado (mgCr.KgFAF⁻¹)

En tanto que, el %Retención de Cr VI a partir de la dosis 19,49-97,47mgCr.kgFAF⁻¹ (figura 26), evidencia un incremento proporcional con la dosis de Cr VI suministrado, revelando nuevamente una tendencia a la saturación en 58.48 mgCr.kgFAF⁻¹. La prueba de Kruskal-Wallis ratifica la diferencia significativa en el %Retención de Cr VI partir de estas dosis (cuadro 55), como consecuencia del efecto del tiempo demostrado anteriormente. La prueba de U de Mann-Whitney (cuadro 56) muestra que no existe diferencia significativa en el % retención de Cr VI entre los niveles de 19,49 y 38,99 tampoco entre 38,99 y 58,48 mgCr.kgFAF⁻¹. Ratificando que a partir de la dosis de 58.48 mgCr.kgFAF⁻¹ la FAFB empieza la saturación de los sitios activos o donores de electrones.

Figura 26. Porcentaje de Cr VI retenido en la FAFB en función del Cr VI suministrado entre 19,49-97,47mgCr.kgFAF⁻¹.



Cuadro 55. Prueba de Kruskal-Wallis de porcentaje de Cr VI retenido en función del Cr VI suministrado, para el rango de 19,49-97,47mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFB.

	Nivel de Cr VI suministrado (mgCr.KgFAF ⁻¹)	N	Rango promedio	Chi-cuadrado	Sig. asintótica
% Cr VI Retenido	19,49	9	35,00	21,458	0,000
	38,99	9	28,00		
	58,48	9	26,00		
	77,97	9	16,00		
	97,47	9	10,00		
	Total	45			

Variable de agrupación: Nivel de Cr suministrado (mgCr.KgFAF⁻¹)

Cuadro 56. Prueba de U de Mann-Whitney de porcentaje de Cr VI retenido en función del nivel de Cr VI suministrado para el rango de 19,49-97,47 mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFB.

	Nivel de Cr VI suministrado (mgCr.kgFAF ⁻¹)		N	U de Mann-Whitney	Sig. asintótica (bilateral)
% Cr VI Retenido	19,49	38,99	9	36,000	0,636
		58,48	9	18,000	0,033
		77,97	9	0,000	0,000
		97,47	9	0,000	0,000
	38,99	58,48	9	36,000	0,671
		77,97	9	18,000	0,043
		97,47	9	18,000	0,043
	58,48	77,97	9	18,000	0,046
		97,47	9	9,000	0,005
	77,97	97,47	9	18,000	0,047

Variable de agrupación: Nivel de Cr suministrado (mgCr.KgFAF⁻¹)

6.4.2 Cromo VI retenido en la Fracción de Ácido Fúlvico de Cultivo

Se valoró la cantidad de Cr(VI) retenido en la FAFC a partir de 11 niveles suministrados durante un período de incubación de 3 días diferentes, los valores obtenidos fueron calculados de acuerdo a la ecuación 1, para expresarlos como mgCr.kgFAF⁻¹ empleando la densidad de la FAFB (1.046 g.mL⁻¹). Los datos se presentan en el cuadro 57 y en las figuras 27, 28 y 29.

Cuadro 57. Valores encontrados en la FAFC en relación al día y a la concentración del Cr VI retenido.

Concentración suministrada de Cr VI		Día					
		Concentración de Cr VI retenido en la FAFC					
		mgL ⁻¹			mgCr.kgFAF ⁻¹		
mgL ⁻¹	mgCr.kgFAF ⁻¹	0	3	5	0	3	5
0,5	0.48	0,5	0,5	0,5	0,48	0,48	0,48
		0,5	0,5	0,5	0,48	0,48	0,48
		0,5	0,5	0,5	0,48	0,48	0,48
1	0.96	1,000	1,000	1,000	0,96	0,96	0,96
		1,000	1,000	1,000	0,96	0,96	0,96
		1,000	1,000	1,000	0,96	0,96	0,96
2	1.91	2,000	2,000	2,000	1,91	1,91	1,91
		2,000	2,000	2,000	1,91	1,91	1,91
		2,000	2,000	2,000	1,91	1,91	1,91
4	3.82	4,000	4,000	4,000	3,82	3,82	3,82
		4,000	4,000	4,000	3,82	3,82	3,82
		4,000	4,000	4,000	3,82	3,82	3,82
8	7.65	7,939	8,000	8,000	7,59	7,65	7,65
		7,939	8,000	8,000	7,59	7,65	7,65
		7,943	8,000	8,000	7,59	7,65	7,65
10	9.56	9,712	10,000	10,000	9,28	9,56	9,56
		9,720	10,000	9,997	9,29	9,56	9,56
		9,727	10,000	10,000	9,30	9,56	9,56

Cuadro 57. Continuación

Concentración suministrada de Cr VI		Día					
		Concentración de Cr VI retenido en la FAFC					
		mgL ⁻¹			mgCr.kgFAF ⁻¹		
mgL ⁻¹	mgCr.kgFAF ⁻¹	0	3	5	0	3	5
20	19.12	15,386	19,518	20,000	14,70	18,66	19,12
		15,603	19,465	20,000	14,92	18,61	19,12
		15,603	19,483	20,000	14,92	18,63	19,12
40	38.24	16,652	24,006	30,272	15,92	22,95	28,94
		14,832	24,225	29,609	14,18	23,16	28,31
		16,880	23,569	29,609	16,14	22,53	28,31
60	57.36	12,075	25,216	30,154	11,54	24,11	28,83
		12,530	25,871	28,827	11,98	24,73	27,56
		12,530	25,871	28,606	11,98	24,73	27,35
80	76.48	14,781	25,988	30,256	14,13	24,85	28,93
		13,415	25,988	29,372	12,83	24,85	28,08
		15,008	25,333	29,814	14,35	24,22	28,50
100	95.60	4,606	13,389	36,328	4,40	12,80	34,73
		4,606	21,255	34,560	4,40	20,32	33,04
		6,426	19,944	33,233	6,14	19,07	31,77

En la figura 27, se observan dos tendencias en la retención de Cr por la FAFC respecto al tiempo, la primera muestra que para las dosis de 0,48-9,56 mgCr.kgFAF⁻¹ la retención del Cr VI es cercana a la dosis suministrada en el tiempo cero, pero que en los días 3-5 se da la retención completa, mientras que la otra revela que a dosis superiores, la retención de Cr (VI) incrementa en función del tiempo mostrando que a partir de la dosis de 38.24 mgCr.kgFAF⁻¹ los sitios activos comienzan a saturarse. Separando las dos tendencias en las figuras 28 y 29, se evidencia que la retención es completa para dosis bajas (hasta 9.56 mgCr.kgFAF⁻¹-figura 28). En la figura 29 se confirma que a partir de 38,24 mgCr.kgFAF⁻¹ la cantidad de Cr retenida incrementa con la dosis y con el día de incubación.

Figura 27. Retención de Cr VI en la FAFC en función del día.

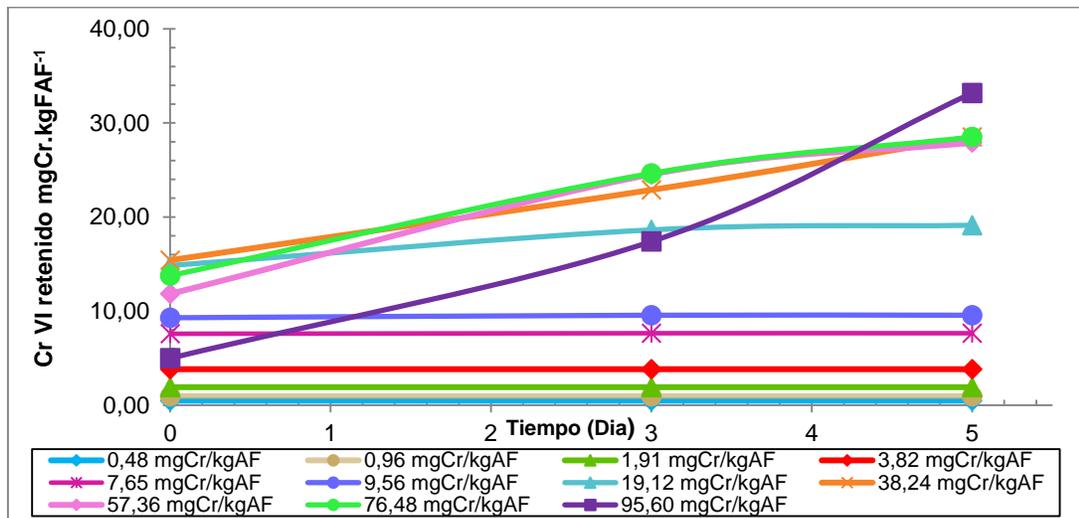


Figura 28. Retención de Cr VI en la FAFC en función del día entre 0,48-9,56 mgCr.kgFAF⁻¹.

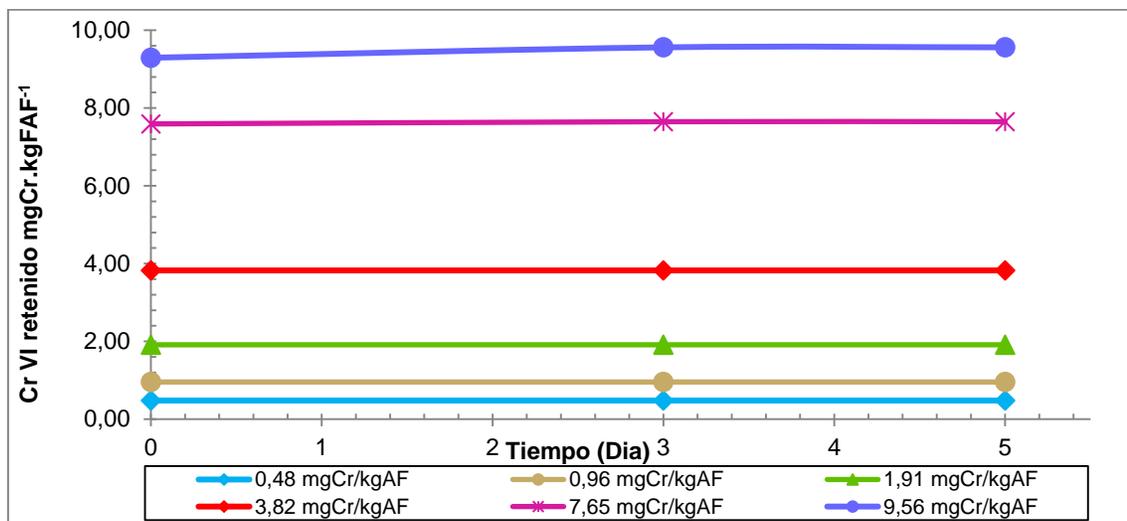
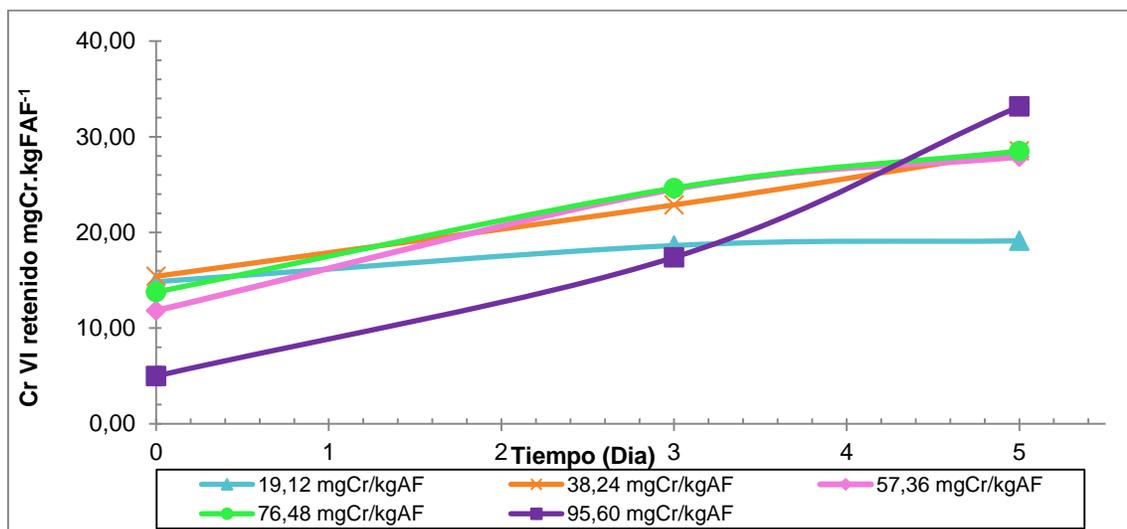


Figura 29. Retención de Cr VI en la FAFC en función del día entre 19,12-95,60 mgCr.kgFAF⁻¹.



La prueba de Kruskal-Wallis (cuadro 58) confirma que no existe diferencia significativa en la cantidad de Cr VI retenido en el rango de 0,48-9,56 mgCr.kgFAF⁻¹ en función del día, indicando que a dosis bajas la retención ocurre desde el mismo momento en que se suministra la dosis a la FAFC y demuestra la presencia de sitios activos libres para la retención (figura 28).

Cuadro 58 Prueba de Kruskal-Wallis de Cr VI retenido en función del día, para el rango de 0,48-9,56 mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFC.

	Tiempo de complejación	N	Rango promedio	Chi-cuadrado	Sig. asintótica
Cr VI retenido (mgCr.kgFAF ⁻¹)	0	18	26,50	0,111	0,946
	3	18	28,00		
	5	18	28,00		
	Total	54			

Variable de agrupación: tiempo de complejación

Mientras que la prueba de Kruskal-Wallis para la cantidad de Cr retenido por la FAFC en el rango de Cr 19,12-95,60 mgCr.kgFAF⁻¹, muestra diferencias significativas en función del día de incubación (cuadro 59). Esto ocurre, como ya se mencionó anteriormente, a altas dosis es probable que los sitios activos de la FAFC se encuentren ocupados por otros metales y es necesario tiempo para removerlos o desplazarlos. De acuerdo a la prueba de U de Mann-Whitey (cuadro 60) se demuestra la dependencia de la cantidad de Cr VI retenido este rango, observándose que entre los días 0-3, 0-5 y 3-5 existe diferencia significativa en la cantidad de Cr VI complejado, así a medida que aumenta el tiempo de interacción entre la FAFC y el Cr VI, aumenta la cantidad de Cr VI retenido., lo que se corrobora con la prueba de medias (cuadro 61), según la cual, el día 5 presenta mayor retención de Cr VI respecto a los otros días.

Cuadro 59. Prueba de Kruskal-Wallis de Cr VI retenido en función del día, para el rango de 19,12-95,60 mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFC.

	Tiempo de complejación	N	Rango promedio	Chi-cuadrado	Sig. asintótica
Cr VI retenido (mgCr.kgFAF ⁻¹)	0	15	8,60	32,919	0,000
	3	15	24,40		
	5	15	36,00		
	Total	45			

Variable de agrupación: tiempo de complejación

Cuadro 60. Prueba de U de Mann-Whitney de Cr VI retenido en función del día para los niveles entre 19,12-95,60 mgCr.kgFAF⁻¹ en al FAFC.

	Tiempo de complejación	N	Rango promedio	U de Mann-Whitney	Sig. asintótica (bilateral)
Cr VI retenido (mgCr.kgFAF ⁻¹)	0	15	8,60	9,000	0,000
	3	15	22,40		
	0	15	8,00	0,000	0,000
	5	15	23,00		
	3	15	10,00	30,000	0,001
	5	15	21,00		

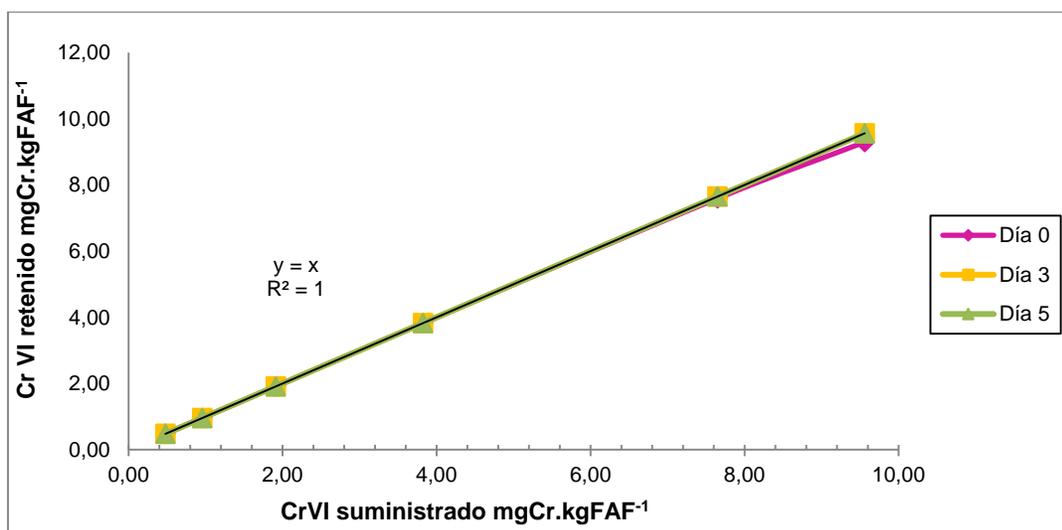
Variable de agrupación: tiempo de complejación

Cuadro 61. Valores de medias de Cr VI retenido en función del tiempo de complejación, en el rango de 19,12-95,60 mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFC.

Tiempo de complejación	Cr VI retenido (mgCr.kgFAF ⁻¹)		
	Media	N	Desv. típ.
0	12,169	15	3,982
3	21,615	15	3,494
5	27,447	15	4,784
Total	20,410	45	7,533

En relación a la retención de Cr VI en la FAFC respecto al nivel de Cr VI suministrado (cuadro 57), para el rango de 0,48-9,56 mgCr.kgFAF⁻¹ la cantidad de Cr VI retenido es directamente proporcional al suministrado (figura 30), esto se infiere de la ecuación de la recta, la cual presenta un alto coeficiente de correlación, manifestando aun presencia de sitios activos capaces de retener el Cr VI suministrado. La prueba de Kruskal-Wallis (cuadro 62) ratifica que en este rango, existe diferencia significativa entre el Cr VI retenido a partir de las diferentes dosis de Cr VI suministrado, la FAFC retiene completamente la dosis de Cr VI suministrada a concentraciones inferiores a 9.56 mgCr.kgFAF⁻¹, la prueba de U de Mann-Withney (cuadro 63) demuestra una vez más, que la cantidad de Cr VI retenido difiere significativamente para todas las dosis, lo que se corrobora con la prueba de medias, en la que se aprecia la proporcionalidad directa entre la cantidad de Cr retenido y el Cr suministrado, con retención completa en cada una de las dosis (cuadro 64).

Figura 30. Retención de Cr VI en la FAFC en función del Cr VI suministrado entre 0,48-9,56 mgCr.kgFAF⁻¹.



Cuadro 62. Prueba de Kruskal-Wallis de Cr VI retenido en función del Cr VI suministrado, para el rango de 0,48-9,56 mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFC.

	Nivel de Cr VI suministrado (mgCr.kgFAF ⁻¹)	N	Rango promedio	Chi-cuadrado	Sig. asintótica
Cr VI retenido (mgCr.kgFAF ⁻¹)	0,48	9	5,00	52,651	0,000
	0,96	9	14,00		
	1,91	9	23,00		
	3,82	9	32,00		
	7,65	9	41,00		
	9,56	9	50,00		
	Total	54			

Variable de agrupación: Nivel de Cr suministrado (mgCr.kgFAF⁻¹)

Cuadro 63. Prueba de U de Mann-Whitney de Cr VI retenido en función del nivel de Cr VI suministrado, para el rango de 0,48-9,56 mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFC.

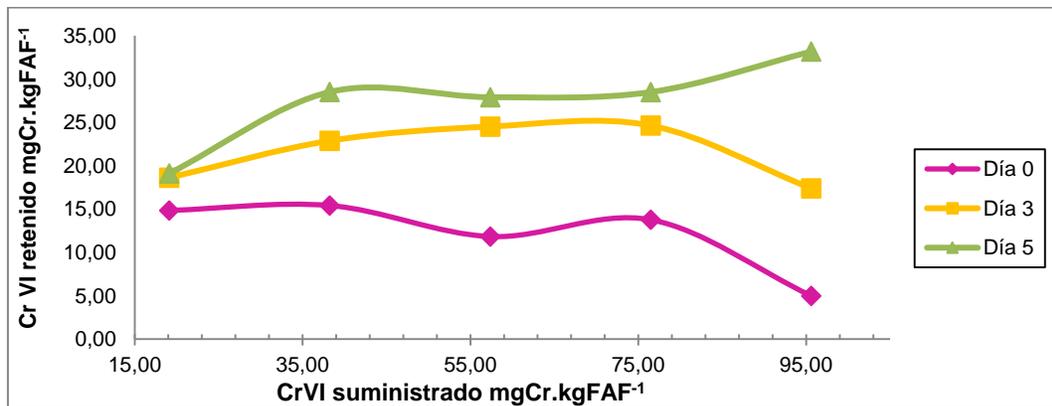
Cr VI retenido (mgCr.kgFAF ⁻¹) en la FAFC dopado con	Nivel de Cr VI suministrado (mgCr.kgFAF ⁻¹)	N	U de Mann-Whitney	Sig. asintótica (bilateral)
0,48	0,96	9	0,000	0,000
	1,91	9	0,000	0,000
	3,82	9	0,000	0,000
	7,65	9	0,000	0,000
	9,56	9	0,000	0,000
0,96	1,91	9	0,000	0,000
	3,82	9	0,000	0,000
	7,65	9	0,000	0,000
	9,56	9	0,000	0,000
1,91	3,82	9	0,000	0,000
	7,65	9	0,000	0,000
	9,56	9	0,000	0,000
3,82	7,65	9	0,000	0,000
	9,56	9	0,000	0,000
7,65	9,56	9	0,000	0,000

Cuadro 64. Análisis de medias de Cr VI retenido en función del Cr VI suministrado, para el rango de 0,48-9,56 mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFC.

Nivel de Cr VI suministrado (mgCr.kgFAF ⁻¹)	Cr VI retenido (mgCr.kgFAF ⁻¹)		
	Media	N	Desv. típ.
0,48	0,480	9	0,000
0,96	0,960	9	0,000
1,91	1,910	9	0,000
3,82	3,820	9	0,000
7,65	7,630	9	0,030
9,56	9,470	9	0,135
Total	4,045	54	3,426

Respecto a la cantidad de Cr VI retenido en el rango de 19,12-95,60 mgCr.kgFAF⁻¹ (figura 31) incrementa proporcionalmente con la dosis pero sin ajuste lineal observándose una tendencia a la saturación en 38.24 mgCr.kgFAF⁻¹. La prueba de Kruskal-Wallis ratifica que no existe diferencia significativa en la cantidad de Cr retenido a partir de este rango de dosis (cuadro 65), evidenciando que las FAFc tienden a saturarse debido a que los sitios libres para formar complejos disminuyen o que el Cr no es lo suficientemente fuerte para desplazar metales que se encuentren en esta FAF provenientes del enclavamiento de estos suelos y de la aplicación de abonos orgánicos maduros. Con la prueba de medias (cuadro 66), se confirma que existe una tendencia a la estabilización de la cantidad de Cr retenido a partir de las dosis de 38.24-76.48 mgCr.kgFAF⁻¹ y que a partir de la dosis de 38.24 mgCr.kgFAF⁻¹ la FAFc comenzara a complejar en menor cantidad el Cr VI suministrado.

Figura 31. Retención de Cr VI en la FAFc en función del Cr VI suministrado entre 19,12-95,60 mgCr.kgFAF⁻¹.



Cuadro 65. Prueba de Kruskal-Wallis de Cr VI retenido en función del Cr VI suministrado, para el rango de 19,12-95,60 mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFc.

	Nivel de Cr VI suministrado (mgCr.kgFAF ⁻¹)	N	Rango promedio	Chi-cuadrado	Sig. asintótica
Cr VI retenido (mgCr.kgFAF ⁻¹)	19,12	9	17,67	2,879	0,578
	38,24	9	26,22		
	57,36	9	23,67		
	76,48	9	26,44		
	95,60	9	21,00		
	Total	45			

Variable de agrupación: Nivel de Cr suministrado (mgCr.kgFAF⁻¹)

Cuadro 66 Análisis de medias de Cr VI retenido en función del Cr VI suministrado, para el rango de 19,12-95,60 mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFC.

Nivel de Cr VI suministrado (mgCr.kgFAF ⁻¹)	Cr VI retenido (mgCr.kgFAF ⁻¹)		
	Media	N	Desv. típ.
19,12	17,5333	9	2,027
38,24	22,2711	9	5,724
57,36	21,4233	9	7,355
76,48	22,3044	9	6,634
95,60	18,5189	9	12,437
Total	20,4102	45	7,533

6.4.2.1 Porcentaje de retención de Cr VI en la FAFC en función del tiempo y el nivel suministrado.

El porcentaje de retención de Cr VI en la FAFC se calculó según la *ecuación 2*. Los datos obtenidos se presentan en el cuadro 67 y figuras 32, 33 y 34, en las que se muestran los %Retención respecto a la dosis suministrada de Cr VI y al día de incubación.

Cuadro 67. Valores encontrados en la Fracción Ácido Fúlvico de Cultivo en relación al día y al % Retención de Cr VI.

Concentración suministrada de Cr VI		% Retención de Cr VI en el AFC		
mgL ⁻¹	mgCr.kgFAF ⁻¹	Día		
		0	3	5
0,5	0.48	100,00	100,00	100,00
		100,00	100,00	100,00
		100,00	100,00	100,00
1	0.96	100,00	100,00	100,00
		100,00	100,00	100,00
		100,00	100,00	100,00
2	1.91	100,00	100,00	100,00
		100,00	100,00	100,00
		100,00	100,00	100,00
4	3.82	100,00	100,00	100,00
		100,00	100,00	100,00
		100,00	100,00	100,00
8	7.65	99,24	100,00	100,00
		99,24	100,00	100,00
		99,29	100,00	100,00
10	9.56	97,12	100,00	100,00
		97,20	100,00	100,00
		97,27	100,00	100,00
20	19.12	76,88	97,59	100,00
		78,02	97,33	100,00
		78,02	97,41	100,00
40	38.24	41,63	60,02	75,68
		37,08	60,56	74,02
		42,20	58,92	74,02

Cuadro 67. Continuación

Concentración suministrada de Cr VI		% Retención de Cr VI en el AFC		
		Día		
mgL ⁻¹	mgCr.kgFAF ⁻¹	0	3	5
60	57.36	20,13	42,03	50,26
		20,88	43,12	48,05
		20,88	43,12	47,68
80	76.48	18,48	32,49	37,82
		16,77	32,49	36,72
		18,76	31,67	37,27
100	95.60	4,61	13,39	36,33
		4,61	21,26	34,56
		6,43	19,94	33,23

El %Retención presenta dos tendencias, la primera se da para el rango de 0,48-9,56 mgCr.kgFAF⁻¹ y la otra 19,12-95,60 mgCr.kgFAF⁻¹, existiendo dependencia del % retención del Cr VI en función del tiempo en este ultimo rango. Esto puede apreciarse mejor en la figura 32 en las que se ve que fue retenido el 100% Cr VI en el día cero en el rango de 0,48-9,56 mgCr.kgFAF⁻¹, sin embargo, las dosis de 7.65-9.56 mgCr.kgFAF⁻¹ alcanzan este porcentaje el día 3. Para el rango de 19,12-95,60 mgCr.kgFAF⁻¹ (figura 33), se observa que solo la dosis de 19,49 mgCr.kgFAF⁻¹ retiene un 100% pero al día 5.

Figura 32. Porcentaje de Cr VI retenido en la FAFC en función del día entre 0,48-9,56 mgCr.kgFAF⁻¹.

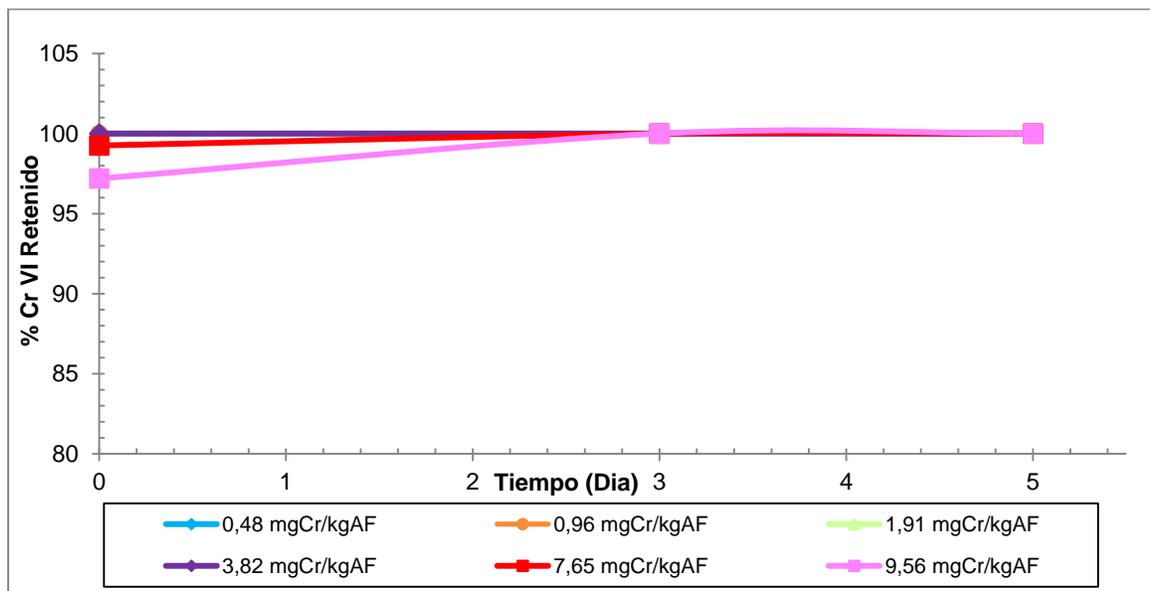
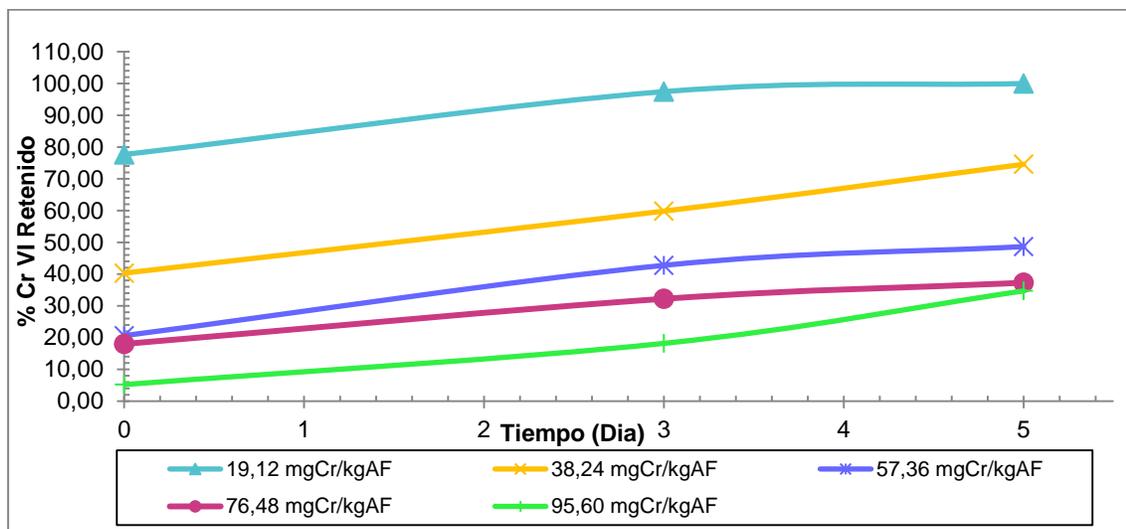


Figura 33. Porcentaje de Cr VI retenido en la FAFC en función del día rango: 19,12-95,60 mgCr.kgFAF⁻¹.



La prueba de Kruskal-Wallis indica que existe diferencia significativa ($p < 0.05$) en el % retención de Cr VI en el rango 0,48-9,56 mgCr.kgFAF⁻¹ y 19,12-95,60 mgCr.kgFAF⁻¹ en función del día (cuadros 68 y 69), revelando que el alto porcentaje de retención se da en forma paulatina.

Cuadro 68. Prueba de Kruskal-Wallis de porcentaje de Cr VI retenido en función del día, para el rango de 0,48-9,56 mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFC.

	Tiempo de complejación	N	Rango promedio	Chi-cuadrado	Sig. asintótica
% Cr VI Retenido	0	18	21,50	13,192	0,001
	3	18	30,50		
	5	18	30,50		
	Total	54			

Variable de agrupación: tiempo de complejación

Cuadro 69. Prueba de Kruskal-Wallis de porcentaje de Cr VI retenido en función del día, para el rango de 19,12-95,60 mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFC.

	Tiempo de complejación	N	Rango promedio	Chi-cuadrado	Sig. asintótica
% Cr VI Retenido	0	15	15,73	7,980	0,019
	3	15	24,13		
	5	15	39,13		
	Total	45			

Variable de agrupación: tiempo de complejación

La prueba de U de Mann-Whitey (cuadro 70 y 71), indica que para ambos rangos, la diferencia se presenta entre los días 0-3 y 0-5, pero no existe diferencia significativa para los días 3-5, lo que se corrobora con la prueba de medias (cuadro 72 y 73), en la que se que obtiene el superior %Retención.

Cuadro 70. Prueba de U de Mann-Whitney de porcentaje de Cr VI retenido en función del día para los niveles entre 0,48-9,56 mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFC.

	Tiempo de complejación	N	Rango promedio	U de Mann-Whitney	Sig. asintótica (bilateral)
% Cr VI Retenido	0	18	15,50	108,000	0,008
	3	18	21,50		
	0	18	15,50	108,000	0,008
	5	18	21,50		
	3	18	18,50	162,000	1,000
	5	18	18,50		

Variable de agrupación: tiempo de complejación

Cuadro 71. Prueba de U de Mann-Whitney de porcentaje de Cr VI retenido en función del día para los niveles entre 19,12-95,60 mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFC.

	Tiempo de complejación	N	Rango promedio	U de Mann-Whitney	Sig. asintótica (bilateral)
% Cr VI Retenido	0	15	12,27	64,000	0,044
	3	15	18,73		
	0	15	11,47	52,000	0,012
	5	15	19,53		
	3	15	13,40	81,000	0,191
	5	15	17,60		

Cuadro 72. Análisis de medias de porcentaje de Cr VI retenido en función del tiempo de complejación, para el rango de 0,48-9,56 mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFC.

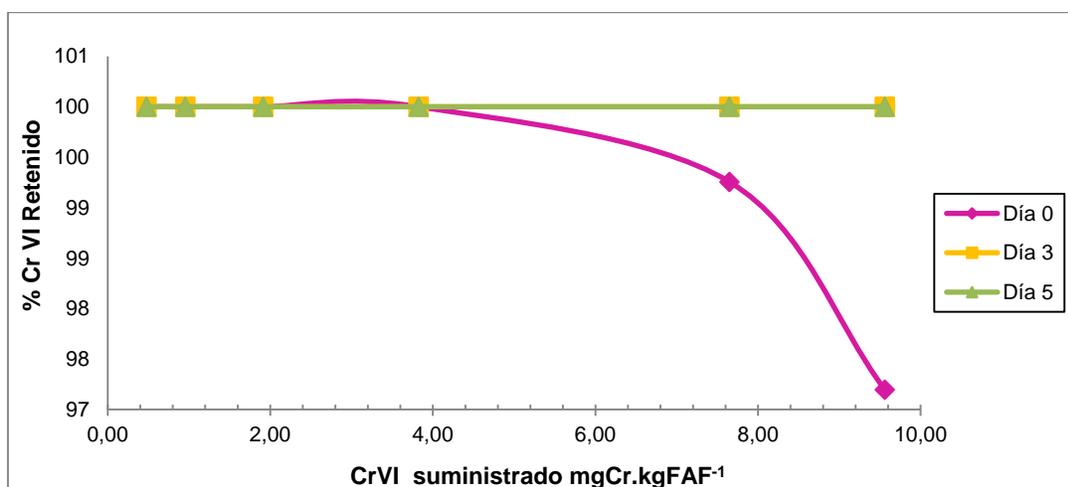
% Cr VI Retenido			
Tiempo de complejación	Media	N	Desv. típ.
0	54,405	15	24,289
3	82,181	15	19,366
5	89,698	15	14,308
Total	75,428	45	24,654

Cuadro 73. Análisis de medias de porcentaje de Cr VI retenido en función del tiempo de complejación, para el rango de 19,12-95,60 mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFC.

% Cr VI Retenido			
Tiempo de complejación	Media	N	Desv. típ.
0	99,408	18	1,056
3	100,000	18	0,000
5	100,000	18	0,000
Total	99,803	54	0,661

Analizando la influencia del nivel de Cr VI suministrado en el %retención de Cr VI en la FAFC, (cuadro 67), en el rango de 0,48-9,56 mgCr.kgFAF⁻¹ se da la retención parcial de la dosis suministrada el día cero y completa a partir del día 3 (figura 34), evidenciándose el inicio de la competencia del Cr VI por los sitios activos de la FAFC. De acuerdo a la prueba de U de Mann-Whitney (cuadro 74) no existe diferencia significativa en el %Retención de Cr VI a partir del rango de 0,48-9,56 mgCr.kgFAF⁻¹ demostrando no saturación de los sitios activos

Figura 34. Porcentaje de Cr VI retenido en la FAFC en función del nivel de Cr VI suministrado, entre 0,48-9,56 mgCr.kgFAF⁻¹.



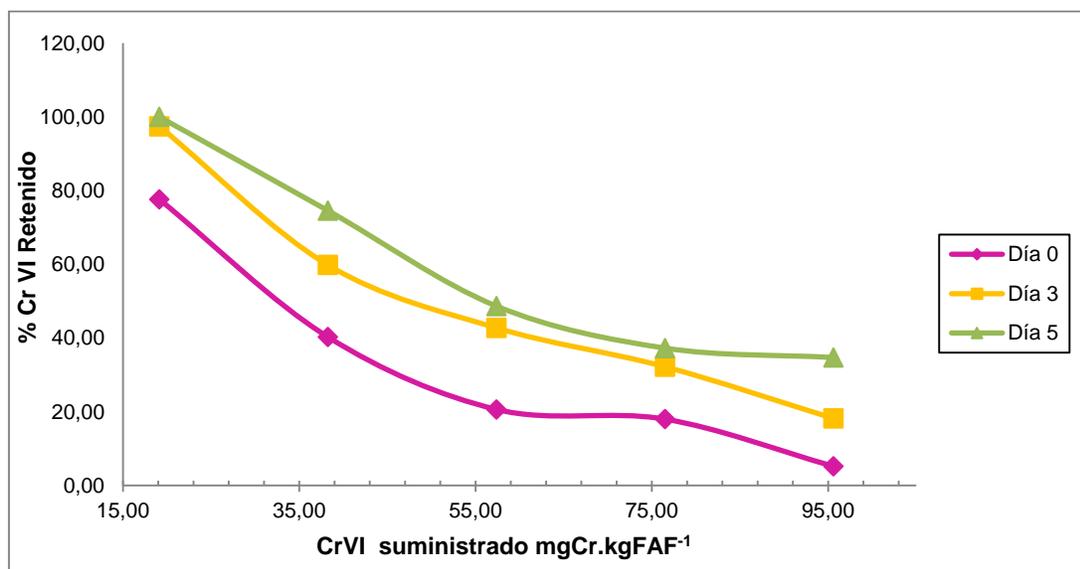
Cuadro 74. Prueba de U de Mann-Whitney de porcentaje de Cr VI retenido en función del nivel de Cr VI suministrado, para el rango de 0,48-9,56 mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFC.

	Nivel de Cr VI suministrado(mgCr.kgFAF ⁻¹)	N	U de Mann-Whitney	Sig. asintótica (bilateral)	
% Cr VI Retenido	0,48	0,96	9	40,500	1,000
		1,91	9	40,500	1,000
		3,82	9	40,500	1,000
		7,65	9	27,000	0,066
		9,56	9	27,000	0,067
	0,96	1,91	9	40,500	1,000
		3,82	9	40,500	1,000
		7,65	9	27,000	0,066
		9,56	9	27,000	0,067
	1,91	3,82	9	40,500	1,000
		7,65	9	27,000	0,066
		9,56	9	27,000	0,067
	3,82	7,65	9	27,000	0,066
		9,56	9	27,000	0,067
7,65	9,56	9	36,000	0,636	

Variable de agrupación: Nivel de Cr suministrado (mgCr.kgFAF⁻¹)

Para el rango de 19,12-95,60 mgCr.kgFAF⁻¹ se aprecia en la figura 35 que a dosis bajas (19,12) se presentan altos porcentajes de retención, pero a partir de esta dosis empieza un descenso en el % retención de Cr VI en los tres días de incubación. La prueba de Kruskal-Wallis indica diferencia significativa en la cantidad de Cr retenida (cuadro 75). La prueba de U de Mann-Whitney (cuadro 76) muestra que la diferencia está únicamente en el % de retención proveniente de las dosis de 76.48 y 95.60 mgCr.kgFAF⁻¹, en donde ocurre el mínimo % de retención, demostrando que a partir de la dosis de 38.24 mgCr.kgFAF⁻¹ la FAFC empieza la saturación de los sitios activos.

Figura 35. Porcentaje de Cr VI retenido en la FAFC en función del nivel de Cr VI suministrado, entre 19,12-95,60 mgCr.kgFAF⁻¹.



Cuadro 75. Prueba de Kruskal-Wallis de porcentaje de Cr VI retenido en función del Cr VI suministrado, para el rango de 19,12-95,60 mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFC.

	Nivel de Cr VI suministrado (mgCr.kgFAF ⁻¹)	N	Rango promedio	Chi-cuadrado	Sig. asintótica
% Cr VI Retenido	19,12	9	41,00	34,392	0,000
	38,24	9	29,89		
	57,36	9	21,56		
	76,48	9	13,56		
	95,60	9	9,00		
	Total	45			

Variable de agrupación: Nivel de Cr suministrado (mgCr.kgFAF⁻¹)

Cuadro 76. Prueba de U de Mann-Whitney de porcentaje de Cr VI retenido en función del nivel de Cr VI suministrado, rango de 19,12-95,60 mgCr.kgFAF⁻¹ en la FAFC.

	Nivel de Cr VI suministrado (mgCr.kgFAF ⁻¹)	N	U de Mann-Whitney	Sig. asintótica (bilateral)	
% Cr VI Retenido	19,12	38,24	9	0,000	0,000
		57,36	9	0,000	0,000
		76,48	9	0,000	0,000
		95,60	9	0,000	0,000
	38,24	57,36	9	17,000	0,038
		76,48	9	2,000	0,001
		95,60	9	0,000	0,000
	57,36	76,48	9	18,000	0,047
		95,60	9	12,000	0,012
	76,48	95,60	9	24,000	0,145

Variable de agrupación: Nivel de Cr suministrado (mgCr.kgFAF⁻¹)

6.5 EFECTO DEL CAMBIO DE USO EN LA CANTIDAD Y EL PORCENTAJE DE CROMO VI RETENIDO

Con el propósito de comparar el efecto del cambio de uso de suelo en la retención de Cr VI en las fracciones de ácidos fúlvicos de los dos usos y su ayuda en la mitigación de la contaminación por este metal, es necesario expresar los resultados obtenidos para cada uso en términos de mgCr.kgFAF⁻¹ a partir de dosis semejantes de suministro, y teniendo en cuenta que la densidad de las FAF de bosque y cultivo es diferente, se aplica la ecuación 14.

Ecuación 14

$$AFB_{mgCrVI} \cdot KgAF^{-1} = \frac{\text{Concentración CrVI retenida en FAFB} \cdot 100}{\text{Concentración CrVI suministrada en FAFB}} \cdot \frac{\text{Concentración CrVI suministrada en FAFC}}{100}$$

Los datos obtenidos para la cantidad de Cr VI retenida en las fracciones de ácidos fúlvicos de los dos usos, se presentan en el cuadro 77, figuras 36 y 37, en donde se aprecian dos tendencias en las FAF, al igual que para los análisis anteriores. La primera tendencia se da en el rango de Cr VI suministrado con dosis entre 0.48-9.56 mgCr.kgFAF⁻¹ (figura 36), y la segunda para el rango de 19.12-95.60 mgCr.kgFAF⁻¹ (figura 37). Conforme a estas, se distingue que para la primera, en los dos usos, se presenta retención completa de la dosis de Cr VI suministrada, contrario a la segunda tendencia, donde la FAFB muestra una capacidad mayor de retención.

Cuadro 77. Valores encontrados para las dos FAF, en relación al día y a la concentración del Cr VI complejado.

Concentración suministrada de Cr VI mgCr.kgFAF ⁻¹	Cantidad de Cr VI retenido en las FAF (mgCr.kgFAF ⁻¹)					
	Día					
	FAFB			FAFC		
	0	3	5	0	3	5
0.48	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48
	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48
	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48
0.96	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96
	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96
	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96
1.91	1,91	1,91	1,91	1,91	1,91	1,91
	1,91	1,91	1,91	1,91	1,91	1,91
	1,91	1,91	1,91	1,91	1,91	1,91
3.82	3,82	3,82	3,82	3,82	3,82	3,82
	3,82	3,82	3,82	3,82	3,82	3,82
	3,82	3,82	3,82	3,82	3,82	3,82
7.65	7,65	7,65	7,65	7,59	7,65	7,65
	7,65	7,65	7,65	7,59	7,65	7,65
	7,65	7,65	7,65	7,59	7,65	7,65
9.56	9,56	9,56	9,56	9,28	9,56	9,56
	9,56	9,56	9,56	9,29	9,56	9,56
	9,56	9,56	9,56	9,30	9,56	9,56
19.12	18,99	19,12	19,12	14,70	18,66	19,12
	18,87	19,12	19,12	14,92	18,61	19,12
	18,87	19,12	19,12	14,92	18,63	19,12
38.24	18,06	38,24	38,24	15,92	22,95	28,94
	17,86	38,24	38,24	14,18	23,16	28,31
	17,66	38,24	38,24	16,14	22,53	28,31
57.36	30,58	50,98	57,36	11,54	24,11	28,83
	30,18	50,98	57,36	11,98	24,73	27,56
	30,18	49,81	57,36	11,98	24,73	27,35
76.48	31,88	56,60	64,82	14,13	24,85	28,93
	32,68	53,47	62,64	12,83	24,85	28,08
	34,68	54,06	63,08	14,35	24,22	28,50
95.60	27,62	48,79	64,88	4,40	12,80	34,73
	28,82	49,58	61,40	4,40	20,32	33,04
	30,43	48,40	61,40	6,14	19,07	31,77

Figura 36. Efecto del cambio de uso de suelo en la retención de Cr en la Fracción de AF en función del día, en el rango de 0.48-9.56 mgCr.kgFAF⁻¹.

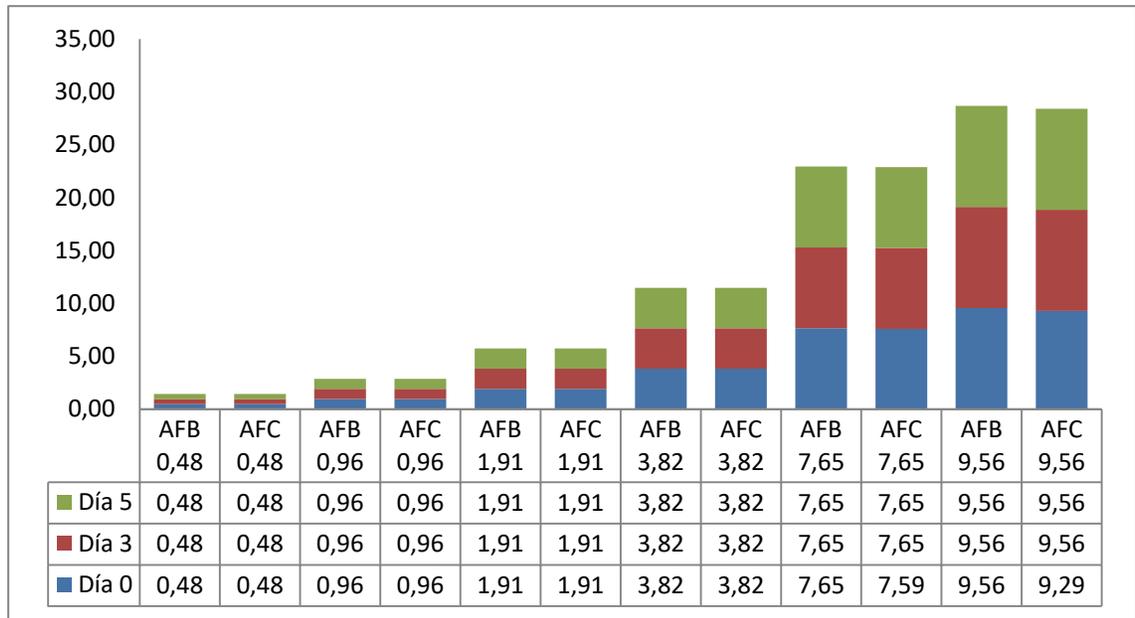
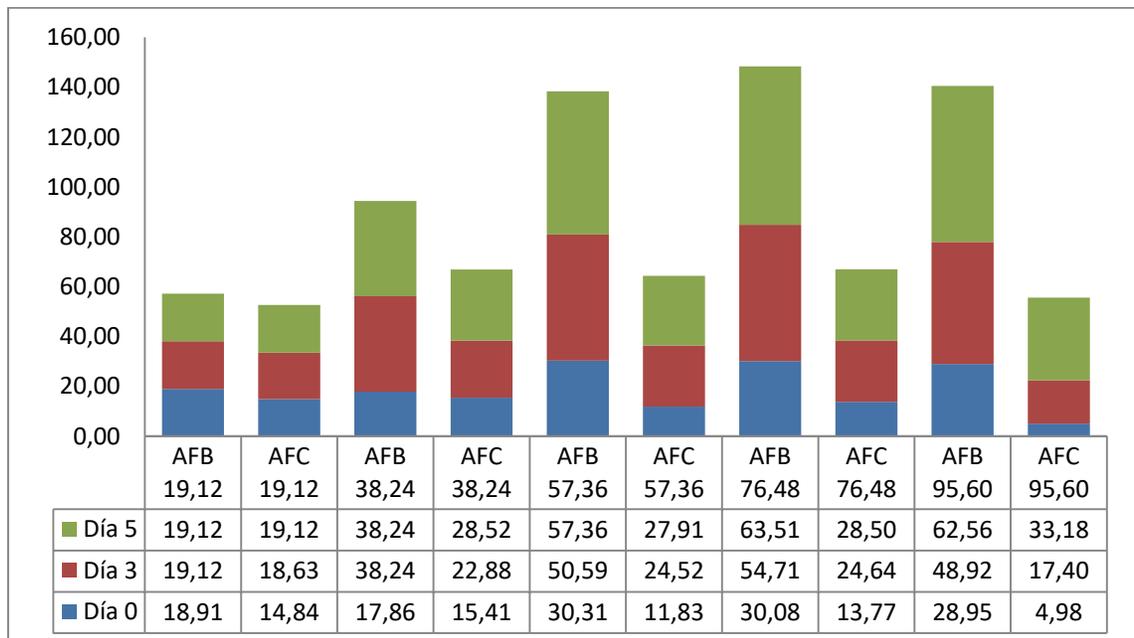


Figura 37. Efecto del cambio de uso de suelo en la retención de Cr en la Fracción de AF en función del día, en el rango de 19.12-95.60 mgCr.kgFAF⁻¹.



La prueba de Kruskal-Wallis muestra que no existe diferencia significativa en la cantidad de Cr retenida a partir del rango 0.48-9.56 mgCr.kgFAF⁻¹ (cuadro 78 y figura 36), en los dos usos, demostrando que a dosis bajas la FAF de ambos usos tiene igual capacidad de retención.

Cuadro 78. Prueba de Kruskal-Wallis de Cr VI retenido en función del uso, rango de 0.48-9.56 mgCr.kgFAF⁻¹.

	Uso	N	Rango promedio	Chi-cuadrado	Sig. asintótica
Cr VI retenido (mgCr.kgFAF ⁻¹)	FAFB	54	55,00	0,028	0,867
	FAFC	54	54,00		
	Total	108			

Variable de agrupación: USO

Mientras que en el rango superior de 19.12-95.60 mgCr.kgFAF⁻¹ las pruebas de Kruskal-Wallis y de U de Mann-Whitney (cuadro 79, cuadro 80 (figura 37), demuestran diferencias significativas en la cantidad de Cr retenido en función del uso, siendo significativamente superior en la FAF de Bosque (cuadro 81).

Cuadro 79. Prueba de Kruskal-Wallis de Cr VI retenido en función del uso, rango de 19.12-95.60 mgCr.kgFAF⁻¹.

	Uso	N	Rango promedio	Chi-cuadrado	Sig. asintótica
Cr VI retenido (mgCr.kgFAF ⁻¹)	FAFB	45	60,47	29,580	0,000
	FAFC	45	30,53		
	Total	90			

Variable de agrupación: USO

Cuadro 80. Prueba de U de Mann-Whitney de Cr VI retenido en función del uso, para el rango de 19.12-95.60 mgCr.kgFAF⁻¹.

	USO	N	Rango promedio	U de Mann-Whitney	Sig. asintótica (bilateral)
Cr VI retenido (mgCr.kgFAF ⁻¹)	FAFB	45	60,47	339,000	0,000
	FAFC	45	30,53		
	Total	90			

Variable de agrupación: USO

Cuadro 81. Análisis de medias de Cr VI retenido en función del uso, para el rango de 19.12-95.60 mgCr.kgFAF⁻¹.

USO	Cr VI retenido (mgCr.kgFAF ⁻¹)		
	Media	N	Desv. Típ.
FAFB	38,7664	45	16,168
FAFC	20,4102	45	7,533
Total	29,5883	90	15,572

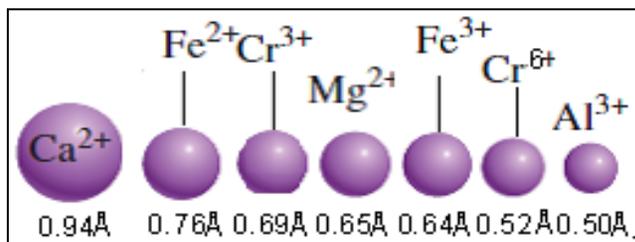
Es probable que la FAF de cultivo tenga retenidos otros metales que impiden la entrada fácil del Cr, por la aplicación de cales dolomitas utilizadas para neutralizar la fuerte acidez y propiciar un adecuado desarrollo del cultivo de papa, se aprecia en el cuadro 82 que las FAF de cultivo presentan valores superiores de Ca y Mg y valores inferiores de Al y Fe que las FAF de Bosque. Cuando se suministra Cr a ambos AF, los contenidos de Al y Fe disminuyen en un 64.93% y 50,42% en AF de Cultivo y en un 57.3% y 28.32% en AF de Bosque, respectivamente. Los contenidos de Ca y Mg son superiores en los AF de cultivo, cuando se suministra Cr estos niveles disminuyen en un 31.6% y en 33% en AF de cultivo mientras que en bosque disminuyen en un 9,2% y 20% respectivamente, demostrando superior desplazamiento del Cr en los AF de cultivo, sin embargo la retención en este uso es inferior a la del bosque, lo que sugiere que el Al y el Fe ayudan a la retención de Cr en estas moléculas, como lo expone Rai, D., 1989, y además se aprecia la competencia entre los diferentes metales por los sitios de unión.

Cuadro 82. Valores de Mg, Ca, Fe y Al en las FAF de los dos usos, sin suministro de Cr VI y con Cr VI suministrado.

	Meq.100gFAF ⁻¹			
	Mg	Ca	Fe	Al
FAFB puro	0,0005	0,0838	0,0904	2,8458
FAFB con Cr (VI) 100 mg.L ⁻¹	0,0004	0,0761	0,0648	1,2153
FAFC Puro	0,0006	0,1141	0,0827	1,4753
FAFC con Cr (VI) 100 mg.L ⁻¹	0,0004	0,0780	0,0418	0,5174

Como se demostró anteriormente, las FAF entre el rango de 0.48-9.56mgCr.kgFAF⁻¹ necesitan de poco tiempo para retener toda la dosis suministrada, contrario a las dosis entre el rango de 19.12-95.60 mgCr.kgFAF⁻¹, que alcanzan su máxima capacidad de retención el día cinco, demostrando que a medida que los AF van llenando sus sitios activos con Cr, dosis posteriores deben competir con los metales presentes en ellos, como el Ca, Mg, Al y Fe, y el desplazamiento de éstos es más difícil y dependerá de varios factores, destacando el radio iónico hidratado (figura 38). En este caso se encontró que efectivamente el Cr(VI) en los AF de ambos usos desplaza en el orden Al³⁺>Fe³⁺>Mg²⁺>Ca²⁺ en forma inversa a su radio iónico hidratado. La dificultad en el desplazamiento de estos metales se ve reflejada en el requerimiento de más tiempo para efectuar la retención del Cr y como se deduce de estos resultados, la mayor retención en todos los casos se presenta el día 5 después de la incubación

Figura 38. Radio iónico de los metales presentes.



La cantidad de Cr presente en los AF de Bosque y cultivo en el día 5 se expresan en meq.100gFAF⁻¹ (cuadro 83).

Cuadro 83. Valores obtenidos de Cr VI en los dos usos en términos de meq.100g⁻¹.

	Concentración suministrada Cr VI	Concentración retenida Cr VI	% Retención
	Meq.100gFAF ⁻¹	Meq.100gFAF ⁻¹	
FAFB Puro	0,000	0,000	0
FAFB100 mg.L ⁻¹	1,125	0,736	65.46
FAFC puro	0,000	0,000	
FAFC 100 mg.L ⁻¹	1,125	0,390	34.67

La prueba de correlación de Pearson (cuadro 84) demuestra que el cambio de uso de suelo de bosque a cultivo afecta negativamente la retención de Cr (VI) en las FAF, porque disminuye drásticamente el % de retención. Así mismo, el Cr VI retenido y el % Cr VI retenido presentan una correlación positiva y altamente significativa con la cantidad de aluminio y hierro presentes en las muestras de AF, el incremento de Al y Fe aumenta la cantidad de Cr VI retenido, debido a que estos dos metales hacen parte de la fracción arcillosa de los suelos, y de acuerdo a estudios realizados por Rai, D., 1989, los suelos con arcillas de tipo montmorillonita y caolinita ayudan a retener altas dosis de Cr VI probablemente por sustitución isomórfica de Al y/o Fe en las láminas de arcillas que están ligadas a los AF como se demuestra en la figura 39 y 40.

Cuadro 84. Correlación entre la cantidad de Cr VI retenido y las cantidades de Mg, Ca, Fe y Al, presentes en las FAF.

		Uso	Al inicial	Al final	Fe inicial	Fe final	Ca inicial	Ca final	Mg inicial	Mg final	%Retención
Cromo VI retenido	Correlación de Pearson	-	1,000**	1,000**	1,000**	1,000**	-	-	-	(a)	1,000**
	Sig. (bilateral)
	N	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

a. No se puede calcular porque al menos una variable es constante.

Figura 39. Complejo órgano-mineral y sitios en donde puede ser quelatado el Cr VI.

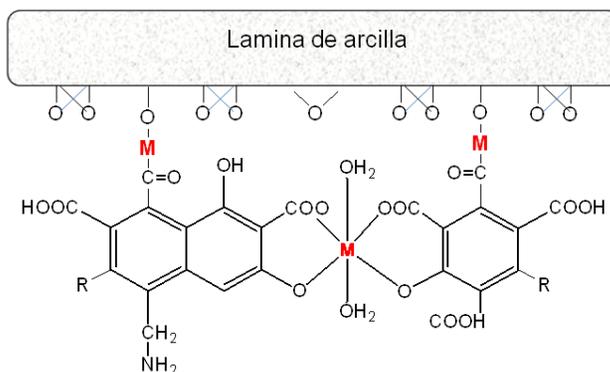
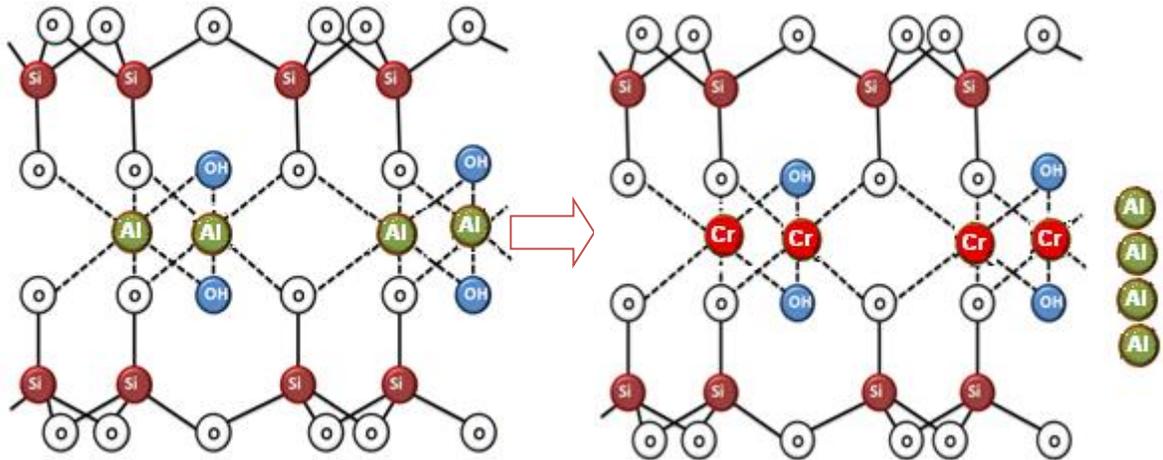


Figura 40. Fracción arcillosa y sitios donde puede ser retenido el Cr VI por sustitución isomórfica.



Otra posibilidad es que a valores de pH ácido, los óxidos de Fe y de Al_2O_3 hidratado, presentaran mayor afinidad con el Cr (VI) como consecuencia de la presencia de grupos protonados. De acuerdo a esto, se puede atribuir que la mayor retención presentada por las FAFB se puede deber a la superior cantidad de Fe y Al en estos suelos porque el pH del suelo de bosque (4,33) es inferior al del Cultivo (5,04).

Además se encuentra una relación negativa y altamente significativa de la retención de Cr con los contenidos de Ca y Mg, en los AF indicando que el incremento de estas dos bases en la FAF, produce disminución de la cantidad y el porcentaje de Cr VI retenido, probablemente el superior radio iónico de estas bases dificulta su intercambio con el Cr y esto se constató anteriormente.

6.6 CORRELACIÓN ENTRE LA CANTIDAD DE CROMO RETENIDA Y ALGUNAS PROPIEDADES DE LA MOH.

Los datos obtenidos acerca de las propiedades de la MOH fueron suministrados por estudios hechos en paralelo por el grupo de agroquímica, sobre estos mismos usos, los resultados se presentan en los cuadros 98 y 99 (anexo C). Con los valores obtenidos, se realizaron las correlaciones de Pearson entre el Cr VI retenido y las diferentes propiedades de la MOH, los resultados se presentan en la cuadro 85.

Cuadro 85. Correlación entre el Cr VI retenido en la MOH y las propiedades de esta.

		Uso	Tiempo de incubación del Cr	%Retención	Propiedades de la MOH				
					pH	Acidez Intercambiable	Aluminio Intercambiable	CIC	CO
Cr VI retenido mgCr.kg ⁻¹	Correlación de Pearson	-0,251**	0,214**	-0,366**	-0,251**	0,251**	0,251**	-0,238**	0,251**
	Sig. (bilateral)	0,000	0,002	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000
	N	198	198	198	198	198	198	198	198

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

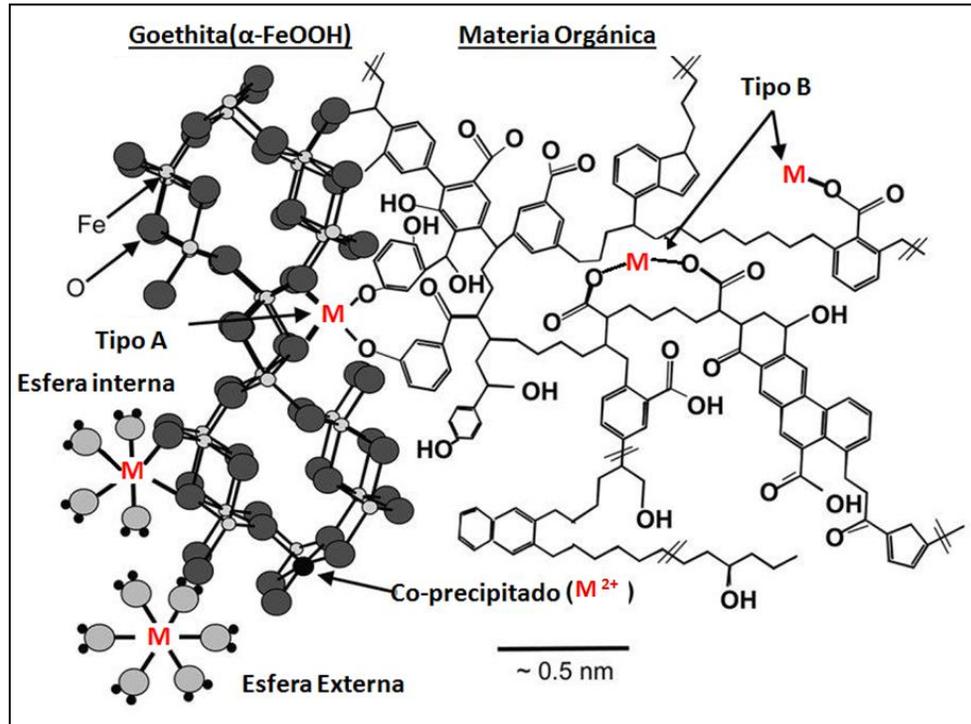
De acuerdo a los resultados obtenidos, se corrobora que la cantidad de Cr VI retenido se correlaciona con el tipo de uso que se emplee (correlación negativa), dado que fue la FAFB la que retuvo más Cr VI, a la vez se evidencia la importancia del estudio del tiempo como factor determinante en la retención de cromo hexavalente, notando que tienen una correlación positiva ratificando que a mayor tiempo de contacto entre las FAF y el metal, habrá mayor complejación de este.

Con respecto al pH se encontró una correlación negativa y altamente significativa que demuestra que el incremento en el valor del pH disminuye la cantidad de Cr VI retenido lo cual corrobora que el trabajo se realizó en el rango de pH adecuado. En estudios realizados por Gupta, S. y Babu, V. 2009 se reporta que a pH básicos el Cr VI se encuentra precipitado con carbonatos, Gao, H. *et al* 2008; Dubey, S., *et al* 2006; muestran también que a pH altos la cantidad de cromo VI retenido o adsorbido sobre una superficie es muy baja comparada con la retenida a pH ácidos. Se destaca que de acuerdo a estos estudios queda demostrado que a pH básicos se ve favorecido es la quelatación de Cr III y no de Cr VI que a la vez se manifiesta en el estudio realizado por Arboleda, C., 2013 para la quelatación de Cr III sobre estos mismos tipos de uso pero en AH. Además, la disminución de la retención de Cr (VI) mediante el aumento del valor de pH puede ser debido a la doble competencia de los aniones (CrO_4^{2-} y OH^-) a ser retenido en la superficie del adsorbente de los cuales predomina OH^- .

Respecto a los valores obtenidos para la acidez y el aluminio intercambiable, la correlación positiva muestra que a mayor cantidad de Al y de H^+ habrá mayor retención de Cr VI, esto reafirma lo obtenido con el pH pues altas concentraciones de aluminio son indicativo de pH ácido. La CIC, presenta una correlación negativa demostrando que la retención de Cr VI se da es por quelatación y/o complejación, o por intercambio aniónico y no por intercambio catiónico, en consecuencia la interacción del metal con la FAF será la representada en la figura 41.

La retención de Cr presenta una correlación positiva y altamente significativa con la cantidad de Corgánico, demostrando nuevamente el efecto protector de la MO sobre la movilidad del Cr.

Figura 41. Interacción de un metal con los diferentes componentes del suelo.



Fuente: Hesterberg, 2011.

CONCLUSIONES

Los métodos colorimétrico de Difenilcarbazida y espectrofotométrico de absorción atómica de llama, estandarizados para la determinación de Cr(VI) y Cr total, son lineales, precisos, repetibles y reproducibles presentando linealidad para el método de la DFC entre 0.1-0.6 mg.L⁻¹; LOD 0.0253 mg.L⁻¹; LOQ 0.0842 mg.L⁻¹ y % Recuperación de 100.114%. Para el método de EAA la linealidad se da entre 1-10 mg.L⁻¹; LOD 0.0216 mg.L⁻¹; LOQ 0.0711 mg.L⁻¹ y % Recuperación de 101.45%.

De acuerdo a la cantidad de Cromo total encontrado en las FAF por el método de EAA, el Cromo presente en las muestras corresponden a Cr VI suministrado,

La cantidad de Cr retenido en los AF de ambos usos para dosis superiores a 19.12 mgCr.kgAF⁻¹, ocurre paulatinamente siendo superior en el día 5. Mientras que la retención ocurre desde el tiempo cero para dosis inferiores.

La cantidad de Cr retenido aumenta proporcionalmente a la cantidad de Cr suministrado, hasta la dosis de 58,48 en AFB, y de 38.24 mgCr.kgFAF⁻¹ en cultivo, a partir de las cuales empieza la saturación de los sitios activos disminuyendo así la cantidad de Cr VI retenido, demostrando que el cambio de uso de suelo de bosque a cultivo afecta negativamente dicha retención

La presencia de otros iones tales como Fe y Al en los AF tienen un efecto positivo y significativo sobre la retención del Cr (VI), mientras que el Ca y el Mg afectan negativamente la retención de Cr en los AF de ambos usos

Las propiedades del suelo y de la MOH influyen considerablemente en la retención de Cr sobre los AF, entre ellas se destaca el pH y la CIC que influye en relación inversa a la retención, mientras que la acidez intercambiable, el aluminio intercambiable y el C orgánico contribuyen a la retención de Cr, con lo que se demuestra que la retención de Cr en las moléculas de AF ocurre principalmente por formación de quelatos o complejos por intercambio aniónico.

Se demuestra el papel importante que cumplen los AF en la retención de metales como el Cr impidiendo de esta manera procesos de contaminación a otras fases ambientales como aguas subterráneas o superficiales.

BIBLIOGRAFIA

AMACHER, M.C.; BAKER, D. Redox Reactions Involving Chromium, Plutonium, and Manganese in Soils. En: Institute for Research on Land and Water Resources, Pennsylvania State University and U.S. Department of Energy, Las Vegas, NV. 1982.

ARRIOLA, L. Validación de métodos analíticos, físicoquímicos y microbiológicos. Guatemala, 2012.

ANDERSON, R. "Essentiality of chromium in humans". En: Sci. Tot. Environ. 1989, Vol. 86, p. 75-81.

ARBOLEDA, C. Valoración de Potencial de Contaminación por Metales Pesados en Sistemas Altoandinos de la Subcuenca Río las Piedras y Contribución de los Ácidos Húmicos a su Posible Mitigación. Tesis para optar al título de Magíster en Ciencias Químicas. Universidad del Cauca. 2013.

ARBOLEDA, C.; MARTINEZ, C. Imágenes de Andisoles en diagnóstico de la subcuenca Río Las Piedras. Santa Teresa, Departamento del Cauca, noviembre de 2012.

BARTLETT, R.; y JAMES, B. Oxidation of chromium in soils. En: J. Environ. 1979, Qual. 8, p 1-8.

BRADL, H. Adsorption of heavy metal ions on soils and soils constituents. En: Journal of Colloid and Interface Science 277 (2004) 1–18. p 12

BRAVO, I.; GIRALDO, E. Manual de prácticas de Química Agrícola: Análisis de Suelos. Popayán, 2003. p 63-64

BREEMEN, N.; BUURMAN, P. Soil Formation. En: Laboratory of Soil Science and Geology. Kluwer Academic Publishers, 2ªed. New York, Dordrecht. 2002. p 95-100

CALDER, L. "Chromium contamination of groundwater". En: Nriagu, J.O., Nieboer, E. (Eds.), Chromium in Natural and Human Environments, (Wiley Interscience, New York), 1988.

CASTAÑO, U. Aproximación al efecto del Global Climatic Tensor en el Bioma Páramo. En: Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales, 2002.

CHEN, J.; y HAO, O. Microbial chromium(VI) reduction. En: Crit. Rev. Environ. Sci. Technol. 28 (3) (1998) 219–251.

COLEMAN, R. Chromium Toxicity: Effects on Microorganisms with special reference to the soil matrix. En: Chromium in the Natural and Human Environments. Jerome O. Nriagu and Ever Niebor, eds. WILEY, Interscience. Ontario, Canada, 344–346. 1988.

COLOMBO, S.; SANTOS, L.; y MASINI, J. Propriedades Acido-Base e de Complexação de Acidos Húmico e Fúlvico isolados de Vermicomposto. En: Química Nova, 2007, vol. 30. p 1261-1266.

Consejería de medio ambiente de la junta de Andalucía. Los criterios y estándares para declarar un suelo contaminado en Andalucía y la metodología y técnicas de toma de muestra y análisis para su investigación. 1999

Corporación Autónoma Regional del Cauca (CRC). Esquema de Ordenamiento Territorial (EOT). Municipio de Totoró (Cauca). 2002.

COTTON, F.; y WILKINSON, G. "Chromium". En: Advanced Inorganic Chemistry, a Comprehensive Text, 1980, 4th Edition. John Wiley, New York. p 719-736.

CRISTAL, A. Congreso Mundial de Páramos. Memorias tomo II. Gente Nueva Editorial. Colombia. 2002.

DUPONT, L.; GUILLON, E. Removal of hexavalent chromium with a lignocellulosic substrate extracted from wheat bran. En: Environ. Sci. Technol. 37 (2003) 4235–4241.

ESSINGTON, M. Soil and water chemistry. CRC Press 2003.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). 7196A, Methods determination chromium, hexavalent (colorimetric), July 1992.

_____, _____. _____. 3005A, Acid Digestion of Waters for Total Recoverable or Dissolved Metals for Analysis by FLAA or ICP Spectroscopy, July 1992.

FAO. Equipo técnico Fundación Pro cuenca Río Las Piedras. Sistematización de buenas prácticas Subcuenca Río Piedras, Cauca, Colombia. 2009, p. 25

GAD, C. "Acute and chronic systemic chromium toxicity". En: Sci. Tot. Environ. 1989, vol. 86, p 149.

GAJDOŠOVÁ D.; POKORNÁ L.; LÁSKA S.; PROŠEK P. y HAVEL J. Are there humic acids in Antarctica Humic Substances. Structures, Models and Functions. En: RSC. Cambridge, United Kingdom. 2001.

GALÁN, E. y ROMERO, A. Contaminación de suelos por metales pesados. En: Revista de la sociedad española de mineralogía. macla. nº 10. Noviembre de 2008, Depósito legal: M-38920-2004 • ISSN: 1885-7264. p. 48-60.

GAO, H.; YUNGUO LIU *, GUANGMING ZENG, WEIHUA XU, TING LI, WENBIN XIA. Characterization of Cr(VI) removal from aqueous solutions by a surplus agricultural waste Rice straw. En: Journal of Hazardous Materials 150 (2008) 446–452.

GUPTA, S.; BABU, B. Removal of toxic metal Cr(VI) from aqueous solutions using sawdust as adsorbent: Equilibrium, kinetics and regeneration studies. En: Chemical Engineering Journal 150 (2009) 352–365.

HANDA, B. "Occurrence and distribution of chromium in natural waters of India". En: Nriagu, J.O., Nieboer, E. (Eds.), Chromium in Natural and Human Environments, (Wiley Interscience, New York), 1988.

HUECAS, G.; LOPEZ, A.; y MORENO, L. Estudio de la Influencia de los suelos contaminados por metales pesados en las aguas naturales. En: Anal. Real. Acad. Nat. Departamento de Edafología. Universidad Complutense, Madrid. 2003

IRWIN, R.; MOUWERIK, M.; STEVENS, L.; SEESE, M.; y BASHAM, W. Environmental Contaminants Encyclopedia Chromium(VI) (Hexavalent Chromium) En: National Park Service Water Resources Divisions, Fort Collins, CO, 1971.

JENKINSON, D.; LADD, J. Microbial biomass in soils: measurement and turnover. En: E. A. Paul & J. N. Ladd (eds.), Soil Biochemistry Vol. 5. Marcel Dekker, New York. 1981. p. 415-417

KONONOVA, M. Materia orgánica del suelo: su naturaleza, propiedades y métodos de investigación. Oikos-Tau. Barcelona. 1982. 365 p.

KUMADA, K. Chemistry of Soil Organic Matter. Tokyo, Japon, 1987. En: http://www.elsevier.com/wps/find/bookdescription.cws_home/502565/description#description.

KUMAR, R.; BISHNOI, N.; y BISHNOI, G. Biosorption of chromium(VI) from aqueous solution and electroplating wastewater using fungal biomass. En: Chem. Eng. J. 135 (2008) 202–208.

KURKOVÁ, M.; KLIKA, Z.; KLIKOVÁ, Ch.; y HAVEL J. Humic acids from oxidised coal I. Elemental composition, titration curves, heavy metals in HA symplex, nuclear magnetic resonance spectra of Has and infrared spectroscopy. En: Chemosphere. 2004, vol. 54, 1237-1245.

MALAGON, C.; PULIDO, R. Suelos de Colombia, origen, evolución, clasificación. En: Instituto Geográfico Agustín Codazzi. 1995. p 289-326

MARTÍNEZ, M. LOS METALES EN LOS EFLUENTES LIQUÍDOS INDUSTRIALES. Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Industrial de Zaragoza, Septiembre 2011.

MELO. L. ANÁLISIS Y CARACTERIZACIÓN DE ÁCIDOS FÚLVICOS Y SU INTERACCIÓN CON ALGUNOS METALES PESADOS. Tesis para optar al título de Licenciada en Química. Ciudad: Pachuca de Soto, Hidalgo. Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería. 2006. p 15-35

MILLER, J. Estadística Y Quimiometría Para Química Analítica. 4ª Edición. Editorial Prentice Hall. España. 2000. p 278.

Ministerio del medio ambiente, Colombia. Suelos altoandinos. En: (<http://www.parquesnacionales.gov.co/PNN/portel/libreria/php/decide.Php?patron=> (28 agosto 2013).

MIRETZKYA, P. Cr(VI) and Cr(III) removal from aqueous solution by raw and modified lignocellulosic materials: A review. En: Journal of Hazardous Materials 180 (2010) 1–19.

MOHAN, D.; PITTMAN, C. “Activated carbons and low cost adsorbents for remediation of tri- and hexavalent chromium from water”. En: Journal of Hazardous Materials. 2006, B137, p 762–811.

MOSQUERA, C. Caracterización preliminar de la estructura de los ácidos húmicos de un suelo Andisol del departamento del Cauca. Departamento de Química. Universidad del Cauca. 2006. 106 p.

MOSQUERA, C., Bravo, I., y Hansen E. Comportamiento Estructural de los ácidos húmicos obtenidos de un suelo Andisol del Departamento del Cauca. En: Revista Colombiana de Química. 2007, 36 (1): 31-41. ISSN 01202804

NIEBOER, E.; JUSYS, A.. Biologic chemistry of chromium. En: Nriagu JO, Nieboer E, editors. Chromium in the natural and human environments. New York: John Wiley & Sons.31–33. 1988

PARRA. J.; ESPINOSA. Acumulación de Pb, Cd y Zn en sedimentos asociados a Rhizophora Mangle, en el río Sevilla, Ciénaga Grande de Santa Marta. En: Revista Académica Colombiana. 2007. p. 347-354

PICCOLO, A. The Supramolecular Structure of Humic Substances. En: Soil Science. 2001. p 810-832.

DUBEY, S.; GOPAL, K. Adsorption of chromium(VI) on low cost adsorbents derived from agricultural waste material: A comparative study, 2006.

SAUVE, S.; HENDERSON, W.; y ALLEN, H. Solid- Solution Partitioning of Metals in Contaminated Soils: Dependence on pH, Total Metal Burden, and Organic Matter. En: Environmental Science Technology, 2000, 34: p. 1125–1131.

SCHNITZER, M. y KHAN, S. Humic Substances in the Environment. 1972. Marcel Dekker. Nueva York.

SHARMA, D.; y FORSTER, C. A preliminary examination into the adsorption of hexavalent chromium using low-cost adsorbents. En: Bioresour. Technol. 47 (1994) 257–264.

SOTELO, P. ESPECIACIÓN DE CROMO EN LA SOLUCIÓN DEL SUELO DE TRES SUELOS ENMENDADOS CON BIOSÓLIDOS BAJO DIFERENTES CONDICIONES OXIDOREDUCTORAS. Tesis para optar al título de Magíster en Ciencias-Geomorfología y Suelos. Universidad de Colombia-Sede Medellín.2006.

SPAIN, A. Implications of microbial heavy metals tolerance in the environment. reviews in undergraduate research, 2003, 2: p. 1-6.

SPOSITO, G. The chemistry of soils. En: Oxford University Press. New York. 1989.

STEINBERG, C. Ecology of Humic Substances in Freshwaters. Springer 2003.

STEVENSON, J. Humus Chemistry. Genesis, composition, reactions. Wiley, New York. 1982

STEVENSON, F. Cycles of Soil Carbon, Nitrogen, Phosphorus, Sulfur, Micronutrients. En: New York, USA: A Wiley-Interscience publication. 1985. p 1-42.

STOLLENWERK, K.; y GROVE, D. "Adsorption and Desorption of Hexavalent Chromium in an Alluvial Aquifer Near Telluride, Colorado." En: Journal of Environmental Quality, 1985, vol. 14, p 150-155.

SWARTZ, M. Analytical Method Development and Validation. 1a ed. CRC Press. New York. 1997.

RAI, D.; EARY, L.; ZACHARA, J. Environmental chemistry of chromium. En: The Science of the Total Environment, 1989, 86, p 15-23.

Richard, F. and Bourg, A. Aqueous geochemistry of chromium: a review. En: Water Research, 1991, vol. 25(7), p 807–816.

Ritchie G.S.P., Sposito , G. Speciation in soils In: Ure, AM., Davidson, C.M (eds). En: Chemical speciation in the environment. Blackie Academic y profesional, 1995, London, 201-203

ROBERT, M. Captura de Carbono en los suelos para un mejor manejo de la tierra. En: Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación. Roma. 2002. p 37-39

ROUNDHILL, D. KOCH, H. Methods and techniques for the selective extraction and recovery of oxoanions. En: Chem. Soc. Rev. 31 (2002) 60–67.

TELS, M. Advances in treating heavy metals containing wastes. En: Resour. Conserv. 14 (1987) 71–92.

TIRAVANTI, G.; PETRUZZELLI, D.; y PASSINO, R. Pretreatment of tannery wastewaters by an ion exchange process for Cr(III) removal and recovery, Water. En: Sci. Technol. 36 (1997) 197–207.

VILDES, M.; SOUZA, K.; SAVI, G.; BIEBER, M.; GARCIA, L.; VITORINO, V.; y BITENCOURT, S. CONTAMINACION POR METALES PESADOS. 2010 En: www.labmico.ufsc.br

YING, L.; QINYAN, Y.; BAOYU, G.; QIAN, L.; y CHUNLING, L. Adsorption thermodynamic and kinetic studies of dissolved chromium onto humic acids. En: Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 65 (2008) 25–29.

YUFERA, E. y CARRASCO, J. Química agrícola I, Suelos y fertilizantes. 1973. Alambra. Madrid, España.

ZAPATA, R. LA MATERIA ORGÁNICA DEL SUELO. En: libro Ciencia del Suelo, Principios Basicos. 2013, vol 2. P 357-396

ANEXO A
(Cuadros implementación de las metodologías)

Cuadro 86. Prueba de normalidad Shapiro-Wilk para la estandarización de Cr VI soluble por UV-Vis en función del día.

Día	Cromo VI soluble por UV-Vis	
	Estadístico	Sig.
1	0,937	0,261
2	0,950	0,644
3	0,954	0,701
4	0,942	0,528
5	0,954	0,703
6	0,937	0,466
7	0,945	0,571

Cuadro 87. Prueba de normalidad Shapiro-Wilk para la estandarización de Cr VI soluble por UV-Vis en función del nivel de concentración.

Nivel de concentración (mg.L ⁻¹)	Cromo VI soluble por UV-Vis	
	Estadístico	Sig.
0,1	0,911	0,141
0,2	0,967	0,810
0,3	0,976	0,939
0,4	0,921	0,198
0,5	0,945	0,455
0,6	0,880	0,048

Cuadro 88. Prueba de normalidad Shapiro-Wilk para la estandarización de Cr total por EAA en función del nivel de concentración.

Nivel de concentración (mg.L ⁻¹)	Cromo total por EAA	
	Estadístico	Sig.
1	0,979	0,978
2	0,873	0,072
4	0,909	0,208
6	0,927	0,345
10	0,972	0,928

Cuadro 89. Prueba de normalidad Shapiro-Wilk para la estandarización de Cr total por EAA en función del día.

Día	Cromo total por EAA	
	Estadístico	Sig.
1	0,861	0,025
2	0,861	0,025
3	0,866	0,029
4	0,863	0,027

ANEXO B

(Cuadros resultados de la retención de Cr VI en los AF)

Cuadro 90. Prueba de normalidad del Cr VI real en función del Cr VI suministrado en la FAFB.

	Nivel (mg.L ⁻¹)	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Concentración real Cr mg.L ⁻¹	0,5	0,912	9	0,333
	1	0,969	9	0,888
	2	0,844	9	0,064
	4	0,982	9	0,974
	8	0,837	9	0,054
	10	0,902	9	0,267
	20	0,982	9	0,974
	40	0,882	9	0,164
	60	0,846	9	0,068
	80	0,950	9	0,685
	100	0,929	9	0,474

Cuadro 91. Prueba de normalidad del Cr VI real en función del Cr VI suministrado en la FAFC.

	Nivel (mgL ⁻¹)	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Concentración real Cr mg.L ⁻¹	0,5	0,851	9	0,077
	1	0,941	9	0,592
	2	0,924	9	0,428
	4	0,853	9	0,081
	8	0,889	9	0,196
	10	0,937	9	0,553
	20	0,925	9	0,435
	40	0,916	9	0,356
	60	0,881	9	0,162
	80	0,897	9	0,232
	100	0,873	9	0,131

Cuadro 92. Prueba de normalidad Shapiro-Wilk de Cr VI retenido en función del día en la FAFB.

	Tiempo de complejación (Día)	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Cr VI retenido (mgCr.KgFAF ⁻¹)	0	0,864	33	0,001
	3	0,802	33	0,000
	5	0,786	33	0,000

Cuadro 93. Prueba de normalidad Shapiro-Wilk de porcentaje de Cr VI retenido en función del día, en la FAFB.

	Tiempo de complejación (Día)	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Porcentaje de Cr VI retenido	0	0,684	33	0,000
	3	0,578	33	0,000
	5	0,489	33	0,000

Corrección de la significación de Lilliefors

Cuadro 94. Prueba de normalidad Shapiro-Wilk de Cr VI retenido en función del día en la FAFC.

	Tiempo de complejación (Días)	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Cr VI retenido (mgCr.kgFAF ⁻¹)	0	0,899	33	0,005
	3	0,852	33	0,000
	5	0,841	33	0,000

Cuadro 95. Prueba de normalidad Shapiro-Wilk de porcentaje de Cr VI retenido en función del día en la FAFC.

	Tiempo de complejación (Día)	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Porcentaje de Cr VI retenido	0	0,741	33	0,000
	3	0,709	33	0,000
	5	0,673	33	0,000

Corrección de la significación de Lilliefors

Cuadro 96. Prueba de normalidad Kolmogorov-Smirnov entre el cromo retenido en función del uso.

	Uso	Kolmogorov-Smirnov		
		Estadístico	gl	Sig.
Cr VI retenido (mgCr.kgFAF ⁻¹)	AFB	0,236	99	0,000
	AFC	0,152	99	0,000

Cuadro 97. Prueba de normalidad Kolmogorov-Smirnov de porcentaje de Cr VI retenido en función del uso.

	Uso	Kolmogorov-Smirnov		
		Estadístico	gl	Sig.
% Cr VI retenido	AFB	0,412	99	0,000
	AFC	0,349	99	0,000

ANEXO C
(Cuadros propiedades físicas y químicas de la MOH)

Cuadro 98. Valores de la cantidad de Cr VI retenido en la FAFB y algunas propiedades de la MOH.

Dia	Dosis Cr VI mg.L-1	Cr VI retenido mgCrVI .kg ⁻¹ MOH	%Retención	Propiedades de la MOH				
				pH	Acidez Intercambiable	Aluminio Intercambiable	CIC	CO
0	0,5	0,25	100	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
0	0,5	0,25	100	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
0	0,5	0,25	100	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
3	0,5	0,25	100	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
3	0,5	0,25	100	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
3	0,5	0,25	100	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
5	0,5	0,25	100	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
5	0,5	0,25	100	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
5	0,5	0,25	100	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
0	1	0,51	100	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
0	1	0,51	100	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
0	1	0,51	100	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
3	1	0,51	100	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
3	1	0,51	100	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
3	1	0,51	100	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
5	1	0,51	100	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
5	1	0,51	100	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
5	1	0,51	100	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
0	2	1,01	100	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
0	2	1,01	100	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
0	2	1,01	100	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
3	2	1,01	100	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
3	2	1,01	100	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
3	2	1,01	100	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
5	2	1,01	100	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
5	2	1,01	100	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
5	2	1,01	100	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
0	4	2,02	100	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
0	4	2,02	100	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
0	4	2,02	100	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
3	4	2,02	100	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
3	4	2,02	100	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
3	4	2,02	100	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
5	4	2,02	100	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
5	4	2,02	100	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
5	4	2,02	100	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
0	8	4,05	100	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
0	8	4,05	100	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
0	8	4,05	100	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
3	8	4,05	100	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
3	8	4,05	100	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
3	8	4,05	100	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
5	8	4,05	100	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
5	8	4,05	100	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
5	8	4,05	100	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
0	10	5,06	100	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
0	10	5,06	100	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
0	10	5,06	100	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
3	10	5,06	100	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
3	10	5,06	100	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
3	10	5,06	100	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33

Cuadro 98. Continuación.

Dia	Dosis Cr VI mg.L-1	Cr VI retenido mgCrVI .kg ⁻¹ MOH	%Retención	Propiedades de la MOH				
				pH	Acidez Intercambiable	Aluminio Intercambiable	CIC	CO
5	10	5,06	100	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
5	10	5,06	100	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
5	10	5,06	100	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
0	20	10,05	99,34	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
0	20	9,98	98,71	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
0	20	9,98	98,71	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
3	20	10,11	100	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
3	20	10,11	100	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
3	20	10,11	100	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
5	20	10,11	100	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
5	20	10,11	100	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
5	20	10,11	100	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
0	40	9,55	47,24	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
0	40	9,45	46,71	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
0	40	9,34	46,19	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
3	40	20,23	100	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
3	40	20,23	100	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
3	40	20,23	100	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
5	40	20,23	100	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
5	40	20,23	100	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
5	40	20,23	100	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
0	60	16,17	53,31	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
0	60	15,96	52,61	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
0	60	15,96	52,61	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
3	60	26,96	88,88	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
3	60	26,96	88,88	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
3	60	26,34	86,83	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
5	60	30,34	100	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
5	60	30,34	100	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
5	60	30,34	100	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
0	80	16,86	41,69	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
0	80	17,29	42,73	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
0	80	18,35	45,35	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
3	80	29,94	74,01	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
3	80	28,28	69,91	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
3	80	28,59	70,68	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
5	80	34,28	84,75	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
5	80	33,13	81,91	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
5	80	33,36	82,48	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
0	100	14,61	28,89	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
0	100	15,25	30,15	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
0	100	16,09	31,83	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
3	100	25,81	51,04	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
3	100	26,22	51,86	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
3	100	25,6	50,63	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33
5	100	34,32	67,87	5,6	1,77	1,16	50,7	14,35
5	100	32,48	64,23	5,61	1,8	1,15	50,88	14,32
5	100	32,48	64,23	5,61	1,79	1,16	50,79	14,33

Cuadro 99. Valores de la cantidad de Cr VI retenido en la FAFC y algunas propiedades de la MOH.

Día	Dosis Cr VI mg.L-1	Cr VI retenido mgCrVI .kg ⁻¹ MOH	%Retención	Propiedades de la MOH				
				pH	Acidez Intercambiable	Aluminio Intercambiable	CIC	CO
0	0,5	0,253	100	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
0	0,5	0,253	100	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
0	0,5	0,253	100	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
3	0,5	0,253	100	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
3	0,5	0,253	100	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
3	0,5	0,253	100	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
5	0,5	0,253	100	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
5	0,5	0,253	100	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
5	0,5	0,253	100	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
0	1	0,506	100	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
0	1	0,506	100	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
0	1	0,506	100	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
3	1	0,506	100	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
3	1	0,506	100	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
3	1	0,506	100	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
5	1	0,506	100	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
5	1	0,506	100	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
5	1	0,506	100	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
0	2	1,011	100	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
0	2	1,011	100	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
0	2	1,011	100	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
3	2	1,011	100	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
3	2	1,011	100	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
3	2	1,011	100	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
5	2	1,011	100	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
5	2	1,011	100	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
5	2	1,011	100	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
0	4	2,023	100	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
0	4	2,023	100	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
0	4	2,023	100	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
3	4	2,023	100	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
3	4	2,023	100	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
3	4	2,023	100	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
5	4	2,023	100	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
5	4	2,023	100	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
5	4	2,023	100	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
0	8	4,014	99,24	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
0	8	4,014	99,24	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
0	8	4,016	99,29	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
3	8	4,045	100	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
3	8	4,045	100	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
3	8	4,045	100	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
5	8	4,045	100	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
5	8	4,045	100	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
5	8	4,045	100	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
0	10	4,911	97,12	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
0	10	4,915	97,2	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
0	10	4,918	97,27	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
3	10	5,056	100	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
3	10	5,056	100	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
3	10	5,056	100	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
5	10	5,056	100	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
5	10	5,056	100	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
5	10	5,056	100	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
0	20	7,775	76,88	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
0	20	7,89	78,02	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9

Cuadro 99. Continuación.

Día	Dosis Cr VI mg.L-1	Cr VI retenido mgCrVI .kg ⁻¹ MOH	%Retención	Propiedades de la MOH				
				pH	Acidez Intercambiable	Aluminio Intercambiable	CIC	CO
0	20	7,89	78,02	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
3	20	9,869	97,59	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
3	20	9,842	97,33	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
3	20	9,851	97,41	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
5	20	10,113	100	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
5	20	10,113	100	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
5	20	10,113	100	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
0	40	8,42	41,63	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
0	40	7,5	37,08	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
0	40	8,535	42,2	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
3	40	12,138	60,02	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
3	40	12,249	60,56	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
3	40	11,917	58,92	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
5	40	15,307	75,68	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
5	40	14,972	74,02	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
5	40	14,972	74,02	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
0	60	6,106	20,13	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
0	60	6,336	20,88	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
0	60	6,336	20,88	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
3	60	12,75	42,03	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
3	60	13,081	43,12	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
3	60	13,081	43,12	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
5	60	15,247	50,26	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
5	60	14,576	48,05	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
5	60	14,464	47,68	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
0	80	7,474	18,48	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
0	80	6,783	16,77	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
0	80	7,589	18,76	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
3	80	13,141	32,49	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
3	80	13,141	32,49	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
3	80	12,809	31,67	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
5	80	15,299	37,82	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
5	80	14,852	36,72	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
5	80	15,075	37,27	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
0	100	2,329	4,61	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
0	100	2,329	4,61	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
0	100	3,249	6,43	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
3	100	6,77	13,39	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
3	100	10,747	21,26	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
3	100	10,084	19,94	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92
5	100	18,369	36,33	5,85	1,16	0,5	51,16	13,93
5	100	17,475	34,56	5,86	1,18	0,49	51,08	13,9
5	100	16,804	33,23	5,86	1,17	0,5	51,12	13,92