



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTADES DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y MEDICINA

**PROGRAMA MULTIDISCIPLINARIO DE POSGRADO EN
CIENCIAS AMBIENTALES**

**DISEÑO DE UN HUMEDAL PARA LA REMOCIÓN DE Cd, As Y Cr
CON PLANTAS DE *TYPHA LATIFOLIA* (ESPADAÑA)**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES**

PRESENTA:

ING. JUAN CARLOS TEJEDA GONZÁLEZ

**DIRECTOR DE TESIS:
DRA. MA. CATALINA ALFARO DE LA TORRE**

COMITÉ TUTELAR:

**DR. ROBERTO BRIONES GALLARDO
DR. RAMON FERNANDO GARCIA DE LA CRUZ**

PROYECTO REALIZADO EN:

**LOS LABORATORIOS DE ELEMENTOS TRAZA Y DE BIOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS QUÍMICAS DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ**

CON FINANCIAMIENTO DEL:

**FONDO MIXTO DE FOMENTO A LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA
CONACYT – GOBIERNO DEL ESTADO DE SAN LUIS POTOSÍ
“REMOCIÓN DE CADMIO, CROMO Y ARSÉNICO EN SOLUCIÓN POR PLANTAS DE *TYPHA
LATIFOLIA*”
FMSLP-2005-CO1-08**

Y APOYO DE LA BECA OTORGADA POR:

**CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (CONACYT)
BECA-TESIS (CONVENIO No. 206835)**

**LA MAESTRIA EN CIENCIAS AMBIENTALES RECIBE APOYO A TRAVÉS DEL
PROGRAMA DE FORTALECIMIENTO AL POSGRADO NACIONAL (PIFOP-
SEP).**

AGRADECIMIENTOS

A DIOS, POR DARME LA SALUD Y FUERZA NECESARIA PARA TERMINAR ESTE CAPÍTULO DE MI VIDA. A USTEDES, ABUELOS, QUE SE FUERON ANTES DE VER ESTE TRABAJO CONCLUIDO, PERO QUE SE QUE DE DÓNDE ESTÉN HAN VISTO CÓMO LO HE TERMINADO.

A MIS PADRES, QUE CON SU PERSEVERANCIA, GUÍA Y APOYO INCONDICIONAL, FUERON PARTE FUNDAMENTAL PARA TERMINAR MIS ESTUDIOS. A MIS TÍAS, TÍOS Y PRIMOS, QUE SIEMPRE ME ALENTARON A SEGUIR ADELANTE.

A MI ESPOSA E HIJO, POR AGUANTARME EN EL FINAL DE ESTA AVENTURA Y SER PACIENTES CONMIGO. POR USTEDES ES QUE TERMINO LO QUE HACE TIEMPO EMPECÉ.

A JUAN CARLOS GONZÁLEZ Y SU FAMILIA, UN ÁNGEL QUE SÉ QUE DIOS PUSO EN MI CAMINO, PARA AYUDARME A CONCLUIR MIS ESTUDIOS. GRACIAS POR TODO.

A LA DRA. CATY, PORQUE SIN SU APOYO, PACIENCIA LLEVADA AL LÍMITE Y CONFIANZA EN MÍ, NO HUBIERA PODIDO CONCLUIR ESTE POSGRADO.

A LOS DRS. ROBERTO Y RAMÓN, QUE ME GUIARON COMO DEBE SER GUIADO UN ESTUDIANTE DE MAESTRÍA, Y SIEMPRE DEMOSTRARON SU APOYO Y PACIENCIA.

A MIS AMIGOS DEL POSGRADO, TANIA, RICARDO, PAULA, MELVA, MAYRA. QUE ME HICIERON COMPAÑÍA EN LAS BUENAS Y EN LAS MALAS DURANTE TODO EL TIEMPO DE ESTUDIO. SIN USTEDES, LA HISTORIA HUBIERA SIDO DIFERENTE.

A MARISSA Y ADRIANA, MUCHÍSIMAS GRACIAS POR SU APORTE FUNDAMENTAL EN LA REALIZACIÓN DE ESTE TRABAJO, LA PARTE ANALÍTICA FUE GRACIAS A USTEDES Y SU APOYO.

A MIS AMIGOS EN COLIMA, JORGE Y KIKE, Y A LOS DE CAMPOVERDE, JOSÉ MANUEL, RODRIGO, ARACELI Y ALMA, QUE INSISTIERON HASTA EL CANSANCIO QUE PODRÍA TERMINAR LO QUE INICIÉ, PARA BUSCAR COSAS MEJORES Y SIEMPRE CONTÉ CON SU APOYO. HE TERMINADO.

AL POSGRADO DE CIENCIAS AMBIENTALES Y A TODOS LOS PROFESORES QUE CONOCÍ Y DE LOS QUE APRENDÍ MUCHÍSIMO DURANTE ESTOS DOS AÑOS: DR. TOÑO REYES, DR. MEDELLÍN, LUCY, DR. FERNANDO, DR. JUAN CARLOS, DR. GREGORIO, DR. ALFREDO, DR. HILARIO, DR. MEJÍA.

A MARICELA Y LORENA, QUE SIN SU APOYO, DEAMBULAR EN LOS TRÁMITES DEL POSGRADO HUBIERA SIDO OTRA NUEVA AVENTURA.

AL ING. JAVIER MORALES, CUYO DISEÑO Y ELABORACIÓN DE LOS PUERTOS DE MUESTREO HICIERON DE ESTE TRABAJO UN ÉXITO.

POR ÚLTIMO, A LA RESPONSABLE DE HABERME EMBARCADO HACE YA CASI 3 AÑOS EN ESTE VIAJE EN BÚSQUEDA DE UNA MAESTRÍA EN UN ÁREA QUE ME APASIONA. NUNCA HUBIERA DECIDIDO CURSARLA, SI NO HUBIERA SIDO POR TI. TE MERECE UN LUGAR ESPECIAL EN ESTE LOGRO. GRACIAS.

Abreviaturas y nomenclaturas

ATSDR	Agency for Toxic Substances & Disease Registry (Agencia para el Registro de Enfermedades y Sustancias Tóxicas)
CONAGUA	Comisión Nacional del Agua
DBO₅	Demanda Bioquímica de Oxígeno (5 días)
EEA	Environmental European Agency (Agencia Ambiental Europea)
FAS	Flujo de Agua Superficial
FASS	Flujo de Agua Subsuperficial
NRCS	Natural Resources Conservation Service (Servicio de Conservación de Recursos Naturales)
PTAR	Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales
SST	Sólidos Suspendidos Totales
TRH	Tiempo de Residencia Hidráulico
UASLP	Universidad Autónoma de San Luis Potosí
USDA	United States Department of Agriculture (Departamento de Agricultura de los Estados Unidos)
USEPA	United States Environmental Protection Agency (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos)

Índice de temas

Introducción	1
Capítulo 1: Antecedentes	
1.1 El problema de la contaminación del agua	3
1.1.1 Contaminación por metales	5
1.1.1.1 Cadmio	6
1.1.1.2 Arsénico	7
1.1.1.3 Cromo	7
1.2 Sistemas convencionales de tratamiento de aguas residuales	8
1.2.1 Situación de las PTAR municipales e industriales en México	11
1.3 Tratamiento de aguas residuales por medio de humedales ..	12
1.3.1 Principales tipos y características de humedales naturales y contruidos	12
1.3.2 Humedales de flujo de agua superficial	13
1.3.3 Humedales de flujo de agua subsuperficial	15
1.3.4 Humedales de plantas acuáticas flotantes	16
1.3.5 Principales parámetros considerados en el diseño de humedales construidos	16
1.3.5.1 Hidrología	17
1.3.5.2 Hidráulica	18
1.3.6 Procesos involucrados en la remoción de contaminantes en los humedales contruidos	19
1.3.6.1 Fitorremediación	21
1.3.6.2 Mecanismos involucrados en la fitoremediación	22
1.3.7 Características de las plantas	25
1.3.7.1 Características de las plantas del género <i>Typha</i>	25
1.4 Estudios previos de humedales para la remoción de elementos traza de aguas contaminadas	27

Capítulo 2: Justificación y Objetivos

2.1	Justificación	31
2.2	Objetivo General	33
2.3	Objetivos Específicos	33

Capítulo 3: Metodología

3.1	Selección de las características del sistema de tratamiento tipo humedal	34
3.2	Recolección de plantas	35
3.3	Preparación de las plantas de <i>T. latifolia</i> para su preservación y desarrollo en el invernadero	36
3.4	Adaptación de las plantas de <i>Typha latifolia</i> para su desarrollo en un sustrato granular	37
3.5	Diseño y construcción del humedal	38
3.6	Adaptación de las plantas de <i>Typha</i> al humedal construido	41
3.7	Establecimiento de las condiciones mínimas de operación del humedal....	42
3.8	Establecimiento de controles de laboratorio para el seguimiento del proceso de remoción de los elementos tóxicos en el humedal	44
3.8.1	Determinación de la concentración de cadmio, arsénico y cromo en las muestras de los controles en laboratorio y cálculo de los porcentajes de remoción	46
3.8.2	Determinación de la concentración basal de cadmio, arsénico y cromo en las plantas de <i>Typha latifolia</i> recolectadas para la construcción del humedal	46
3.9	Preparación del material para la colecta y análisis de muestras.....	47
3.10	Procedimiento de operación del humedal	47
3.10.1.	Determinación de la concentración de cadmio, arsénico y cromo en las muestras recolectadas de la solución del humedal	51
3.10.2	Cuantificación de la clorofila en las muestras de plantas del humedal	51
3.10.3	Cuantificación de Cd, As y Cr adsorbido y acumulados por las plantas	52
3.11	Determinación del efecto de las plantas de <i>Typha</i> en el pH de la solución...	53

3.12	Efecto del material de soporte (grava y piñón) sobre el pH y la concentración de cadmio en la solución	54
Capítulo 4: Resultados y Discusión		
4.1	Recolección de las plantas de <i>Typha</i>	56
4.2	Adaptación de las plantas de <i>Typha</i> en el invernadero	57
4.3	Adaptación de las plantas de <i>Typha</i> al sustrato granular	57
4.4	Consideraciones en el diseño y construcción del humedal.....	58
4.5	Adaptación de las plantas de <i>Typha</i> al humedal construido.....	59
4.6	Condiciones de operación del humedal	62
4.7	Remoción de Cd, As y Cr por el material utilizado de soporte de las plantas	63
4.8	Remoción de Cd, As y Cr por el humedal construido	68
4.9	Adsorción y acumulación de Cd, As y Cr por las plantas de <i>Typha latifolia</i> ...	87
Capítulo 5: Conclusiones y Recomendaciones		
5.1	Conclusiones, recomendaciones y trabajos futuros	95
Bibliografía		100

Índice de Figuras

	PÁGINA
Figura 1.1. Variación de la disponibilidad natural media per cápita del agua en México en el período 1950-2000 (CONAGUA, 2002)	3
Figura 1.2. Niveles actuales y proyectados de tratamiento del agua residual para los cuatro grupos de países que integran la Comunidad Europea (EEA, 2005)	10
Figura 1.3. Esquema representativo de un humedal FAS. Tomada de Kadlec y Knight (1996)	13
Figura 1.4. Esquema representativo de un humedal FASS (Lara, 1999)	15
Figura 1.5. Mecanismos de remoción de contaminantes en las plantas (Pilon-Smits, 2005)	24
Figura 1.6. Características morfológicas de raíz, hojas y flores de las plantas de <i>Typha (domingensis y latifolia)</i> (IFAS, 1990)	26
Figura 1.7. Esquema de los estudios sobre la Ciencia de los Humedales (elaborada a partir de la información proporcionada por Gopal, 2003)	27
Figura 3.1. Aspectos de los sitios donde se recolectaron las plantas de <i>Typha latifolia</i> (A – C) y de la forma de transporte (D) de las plantas al Invernadero de la Facultad de Ciencias Químicas, UASLP	35
Figura 3.2. Aspectos de la plantación y propagación de <i>Typha latifolia</i> en el invernadero en tierra Pro-Mix®	36
Figura 3.3. Aspectos de las plantas de <i>Typha latifolia</i> sembradas en grava (A) y piñón (B y C)	37
Figura 3.4. Aspecto de la estructura de láminas de policarbonato y acero que forman el soporte del humedal	38
Figura 3.5. Aspecto de los puertos de muestreo (A) y de la válvula de salida desde donde se colectan las muestras (B)	39
Figura 3.6. Tuberías para el afluente (A) y para el efluente (B)	40
Figura 3.7. Recipientes utilizados para la alimentación (bote azul) de la solución de contaminantes y para la recepción del efluente tratado (bote blanco)	40

Figura 3.8.	Aspecto de los puertos de muestreo instalados en el humedal	40
Figura 3.9.	Porcentaje de cobertura vegetal de <i>Typha</i> y <i>Scirpus</i> en un humedal (USEPA, 1991)	41
Figura 3.10.	Vista completa del humedal construido de flujo subsuperficial utilizado en este trabajo	43
Figura 3.11.	Aspecto de los controles de laboratorio para el seguimiento del proceso de remoción de los elementos tóxicos en el humedal: (A) Control de remoción de Cd, As y Cr por el material de soporte de las plantas, (B y C) Control de remoción de Cd, As y Cr por las raíces de las plantas, (D) Control de contaminación del material de soporte y (E) Control de concentración basal de Cd, As y Cr en las plantas.....	45
Figura 3.12.	Aspecto de la raíz y del seccionamiento (tallo+raíz) de las plantas del humedal para la cuantificación de metales y As adsorbidos y acumulados por la planta	52
Figura 3.13.	Aspecto de las plantas de <i>Typha latifolia</i> durante la medición de la variación de pH	54
Figura 3.14.	Esquema del experimento del efecto del material de soporte sobre el pH y la concentración de cadmio en la solución	55
Figura 4.1.	Afloramiento de la <i>Typha domingensis</i> y <i>latifolia</i> . (IFAS, 1990)	56
Figura 4.2.	Aspecto del desarrollo de las plantas de <i>Typha latifolia</i> en grava (A) y en piñón (B)	58
Figura 4.3.	Aspectos de (A) las vistas lateral, frontal e inferior del armazón de metal elaborado para la construcción del humedal y (B) del refuerzo propuesto para la parte inferior del armazón	59
Figura 4.4.	Aspecto del crecimiento de la raíz de <i>T. latifolia</i> en el humedal posterior a la adición de nutrientes	60
Figura 4.5.	Vista de las plantas de <i>T. latifolia</i> (A) y de su distribución espacial (B) en el humedal construido en Enero del 2008	61
Figura 4.6.	Vistas de las válvulas para regulación de los flujos del afluente (A) y del efluente (B) en el humedal construido	62
Figura 4.7.	Variación de la concentración de Cd, As y Cr con el tiempo por efecto de la remoción de los elementos por la grava	64

Figura 4.8.	Porcentajes de remoción de Cd, As y Cr de la solución con el tiempo por efecto del material de soporte utilizado para las plantas	64
Figura 4.9.	Variación de la concentración de Cd, As y Cr con el tiempo por efecto de la remoción de los elementos por raíces de <i>T. latifolia</i>	66
Figura 4.10.	Porcentajes de remoción de Cd, As y Cr de la solución con el tiempo por efecto de las raíces de <i>T. latifolia</i>	66
Figura 4.11.	Aspecto de las raíces de una planta: (A) antes de su exposición a la solución de Cd, As y Cr, (B) al finalizar la prueba, y (C) un acercamiento de la aparición de un brote durante el período de exposición de la planta a la solución contaminada	68
Figura 4.12.	Variación del pH durante la experimentación en el afluente, los seis puertos de muestreo y en el efluente del humedal	70
Figura 4.13.	Variación de la concentración de cadmio total disuelto durante el período de experimentación en el afluente, los seis puertos de muestreo y en el efluente del humedal	72
Figura 4.14.	Variaciones del pH de la solución con respecto del tiempo en pruebas realizadas en presencia de plantas de <i>Typha latifolia</i>	74
Figura 4.15.	Aspecto de las plantas sometidas a diferentes condiciones de pH al inicio de la prueba (A) y al final de 10 días de experimentación (B)	75
Figura 4.16.	Variación del pH con el tiempo en una solución de Cd (II) conteniendo 100 g de material de soporte (grava y piñón) en un volumen de 300 mL	76
Figura 4.17.	Variación de la concentración de Cd (II) con el tiempo en una solución conteniendo 100 g de material de soporte (grava y piñón) en un volumen de 300 mL	77
Figura 4.18.	Variación de la concentración de arsénico total disuelto durante el período de experimentación en el afluente, los seis puertos de muestreo y en el efluente del humedal	79
Figura 4.19.	Variación de la concentración de cromo total disuelto durante el período de experimentación en el afluente, los seis puertos de muestreo y en el efluente del humedal.....	81
Figura 4.20.	Distribución espacial de las plantas en el humedal que presentaron daño en el crecimiento (A) y daño en las hojas (B)	83

Figura 4.21. Distribución de las plantas que se eligieron para la determinación de clorofila	84
Figura 4.22. Concentración total de clorofila en función del tiempo de experimentación en el humedal con <i>Typha latifolia</i>	85
Figura 4.23. Aspectos de las plantas en el humedal en diferentes fechas de la experimentación: (A) 22 de Febrero, 2008; (B) 25 de Febrero, 2008; (C) 28 de Febrero, 2008; (D) 5 de Marzo, 2008; (E) 13 de Marzo, 2008, y, (F) 17 de Marzo, 2008	86
Figura 4.24. Adsorción de Cd, As y Cr a las raíces de <i>Typha latifolia</i> a lo largo de los 6 puertos de muestreo	87
Figura 4.25. Adsorción de Cd, As y Cr en los 10 cm adyacentes a la raíz de las plantas de <i>Typha latifolia</i> a lo largo de los 6 puertos de muestreo	88
Figura 4.26. Acumulación de los elementos tóxicos en la raíz de las plantas de <i>Typha</i> a lo largo de los 6 puertos de muestreo	89
Figura 4.27. Acumulación de los elementos tóxicos en los primeros 10 cm adyacentes a la raíz de las plantas de <i>Typha</i> en los 6 puertos de muestreo	90
Figura 4.28. Comparación adsorción/acumulación del Cd en la raíz de las plantas de <i>Typha</i> en los 6 puertos de muestreo	91
Figura 4.29. Comparación adsorción/acumulación del As en la raíz de las plantas de <i>Typha</i> en los 6 puertos de muestreo	91
Figura 4.30. Comparación adsorción/acumulación del Cr en la raíz de las plantas de <i>Typha</i> en los 6 puertos de muestreo	92
Figura 4.31. Comparación adsorción/acumulación del Cd en los 10 cm de tallo de las plantas de <i>Typha</i> en los 6 puertos de muestreo	92
Figura 4.32. Comparación adsorción/acumulación del As en los 10 cm de tallo adyacentes a la raíz de las plantas de <i>Typha</i> en los 6 puertos de muestreo	93
Figura 4.33. Comparación adsorción/acumulación del Cr en los 10 cm de tallo de las plantas de <i>Typha</i> en los 6 puertos de muestreo	94
Figura 5.1. Propuesta de un sistema mixto de humedales y biofiltro para la depuración de aguas residuales con elementos tóxicos	99

Lista de Tablas

	PÁGINA
Tabla 1.1. Principales sistemas de tratamiento de aguas residuales en México registrados en el año 2006 (CONAGUA, 2007b)	9
Tabla 1.2. Descargas de aguas residuales municipales y no municipales en México en el año 2006 (CONAGUA, 2007b)	11
Tabla 1.3. Estudios previos sobre humedales naturales y construidos	30
Tabla 4.1. Características de las plantas de <i>Typha latifolia</i> utilizadas en la construcción del humedal en Septiembre del 2007	60
Tabla 4.2. Características de las plantas de <i>Typha latifolia</i> utilizadas en el humedal construido en Enero del 2008	61
Tabla 4.3. Características generales de altura y aspecto de las plantas en el humedal.....	82

INTRODUCCIÓN

El presente trabajo forma parte de los estudios que realizó la Facultad de Ciencias Químicas y el Posgrado Multidisciplinario de Ciencias Ambientales de la UASLP (Carranza, *et al*, 2005; Carranza, 2005; Alonso, 2005; Pecina, 2008; Leura, 2009) con la finalidad de estudiar la capacidad de las plantas de *Typha latifolia* para sobrevivir en ambientes acuáticos contaminados con metales pesados y arsénico, así como estudiar la factibilidad de utilizar a esta planta en procesos de fitorremediación. El proyecto tuvo como propósito dilucidar los procesos por los que la *Typha latifolia* era capaz de tolerar elevadas concentraciones de cadmio, arsénico y cromo. Esta investigación estuvo sustentada en resultados obtenidos en trabajos previos, y buscó diseñar un sistema de tratamiento que maximizara las capacidades observadas de las plantas de la especie *Typha* para tolerar y acumular Cd, As y Cr, ya que son elementos que se encuentran en gran abundancia en los cuerpos de agua y representan un gran riesgo ambiental tanto para la vida silvestre como para los seres humanos.

Desde los años 70, en diferentes países de Norteamérica y Europa se ha venido utilizando los humedales naturales como sistema de tratamiento de aguas residuales contaminadas con metales pesados y arsénico, ya que estos sistemas poseen la capacidad de depurar aguas altamente contaminadas, debido a lo cual se empezaron a diseñar sistemas de tratamiento que simularan las condiciones de tales ecosistemas, lo que dio paso a la aparición de los humedales construidos.

En México, el uso de los humedales como sistemas de tratamiento no se ha extendido a los niveles observados en países como Estados Unidos, Canadá, o varios más de la Comunidad Europea. Su aplicación es una alternativa sumamente atractiva debido a su bajo mantenimiento y costo de instalación-operación, una efectividad de remoción notable para nitratos y fosfatos, y respetable para metales pesados y compuestos orgánicos. No obstante, es necesario investigar más a fondo los diferentes procesos involucrados en la remoción de contaminantes, tales como metales pesados, arsénico y

compuestos orgánicos, con el objeto de diseñar un humedal altamente efectivo dada la complejidad de compuestos que se encuentran presentes en las aguas residuales domésticas e industriales.

En este trabajo se diseñó un humedal de flujo subsuperficial y se construyó a nivel microcosmos, con una longitud de 2 m, y una mezcla de grava y piñón como material de soporte, y con plantas de *Typha latifolia* como material vegetal. Este humedal cuenta con ventajas tales como un mantenimiento mínimo, menores tasas de evaporación, disminución de la aparición de vectores transmisores de enfermedades como mosquitos y una vista amigable al entorno, entre otros. Además, al humedal se le instalaron 6 puertos de muestreo a lo largo del mismo, con el objeto de obtener el comportamiento de los elementos estudiados (cadmio, arsénico y cromo) durante 90 días de experimentación.

Los resultados obtenidos indicaron una remoción del 100% de cadmio de la columna de agua, así como la capacidad de las plantas de *Typha* de adsorber y acumular cadmio y cromo en raíces, y transportar parte de estos elementos a las hojas. Los puertos de muestreo fueron fundamentales para comprender el comportamiento de la remoción del cadmio, arsénico y cromo a lo largo del humedal, y la medición de clorofila fue un factor indispensable que permitió comprobar el efecto dañino de los elementos tóxicos en las plantas.

Capítulo 1

ANTECEDENTES

1.1 El problema de la contaminación del agua

Considerada como renovable, el agua es un recurso natural de vital importancia tanto ecológica como económica (EEA, 2006). Aprovechando todas y cada una de sus etapas el hombre ha sabido beneficiarse de este recurso, por desgracia, su extracción de manera excesiva y la descarga de aguas residuales sin tratar a los cuerpos receptores ha ocasionado daño a los ecosistemas acuáticos. Actualmente su disponibilidad demuestra una alarmante disminución y una pobre distribución, teniendo México una reducción del 75.5% durante el periodo 1950-2006 (CONAGUA, 2002). En Europa, por ejemplo, existe una diferencia de más de 75,000m³/hab/año entre países como Noruega e Islandia respecto a Chipre y Malta (EEA, 2003). Por lo anterior, el tratamiento de aguas residuales toma un papel importante en la gestión actual del agua.

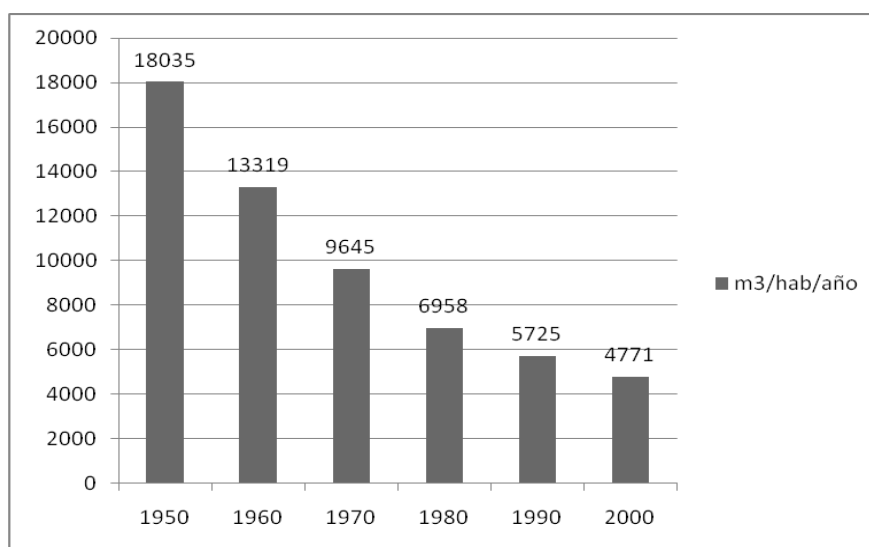


Figura 1.1. Variación de la disponibilidad natural media per cápita del agua en México en el período 1950-2000 (CONAGUA, 2002).

La contaminación del agua es sólo uno de varios problemas a los que se enfrenta el hombre, además de la deforestación, contaminación de suelos, contaminación atmosférica, cambio climático, etc. El agua utilizada para las diversas actividades humanas como la agricultura, el uso doméstico, la industria, la generación de electricidad, entre otras, es devuelta a los cuerpos receptores naturales una vez terminada la función para la que se destinó; sin embargo, en la actualidad ya no es posible regresarla a dichos cuerpos receptores sin un tratamiento previo, ya que modificamos su calidad original debido al uso indiscriminado de una gran gama de contaminantes en nuestras actividades cotidianas [agentes infecciosos, químicos orgánicos, químicos inorgánicos, material radioactivo; sedimentos, nutrientes de plantas, desechos demandantes de oxígeno (Cunningham, *et al*, 2005)].

Para establecer el uso sostenible del agua es indispensable eliminar lo más posible a los contaminantes que se encuentran en ella, sin descuidar también la distribución y los usos que se le asignarán. Actualmente es posible clasificar a las aguas residuales en municipales y no municipales, dependiendo de la ubicación de la población y las actividades económicas que involucran. Las primeras abarcan a las que son administradas por los sistemas de alcantarillado municipales urbanos y rurales, mientras que las segundas corresponden a aquellas que se descargan directamente a los cuerpos receptores naturales, como en el caso de la industria autoabastecida (CONAGUA, 2007a).

1.1.1 Contaminación por Metales

Los metales (Cd, Cr, Zn, Pb, Fe, Ni, etc.) se encuentran de manera natural en diversos estratos de la corteza terrestre; sin embargo, varias actividades humanas como la minería, industria y agricultura han acelerado el proceso de liberación de los metales hacia los ecosistemas, causando graves problemas ambientales y estableciendo un grave riesgo a la salud humana (Lantzy y Mackenzie, 1979; Nriagu, 1979; Ross, 1994). A pesar de que varios metales son esenciales para las células (ej. Cu, Fe, Mn, Ni, Zn), todos son tóxicos a altas concentraciones. La toxicidad de los metales puede deberse a que producen estrés oxidativo, además de reemplazar a otros metales esenciales en pigmentos o enzimas, alterando su función (Van Assche y Clijsters, 1986; Rivetta *et al*, 1997). Las diferencias en solubilidad, absorción, transporte y reactividad química de los metales provocarán efectos específicos de toxicidad en el hombre (Stohs y Bagchi, 1995).

Los métodos convencionales utilizados para la remediación de sustratos contaminados por metales incluyen el lavado del suelo, procesos electrocinéticos, reducción y oxidación química, excavación, ozonización, ósmosis inversa, procesos de membranas, extracción química, inundación, incineración, desorción térmica. En los Estados Unidos, el costo para remediación de sitios contaminados es de 7 a 8 mil millones de dólares por año, de los cuales cerca del 35% se requiere para la remediación de agua y suelo contaminados por metales (Glass, 1999, 2000; Prasad, 2003; Volke-Sepúlveda, *et al*, 2004).

Entre los elementos considerados de mayor importancia como contaminantes ambientales se encuentran el cadmio (Cd), arsénico (As) y el cromo (Cr), además de mercurio, plomo y selenio, entre otros.

1.1.1.1 Cadmio

Metal de color aparente blanco azulado, muy dúctil y maleable, en algunos aspectos con características similares al zinc. Se encuentra en todo tipo de terrenos y rocas, inclusive en el carbón y abonos minerales. En los Estados Unidos es extraído principalmente durante la producción de otros metales como el zinc, plomo y cobre. Su estado de oxidación más común es +2.

Cerca de tres cuartas partes del cadmio producido se emplean para fabricar baterías, especialmente en las de níquel–cadmio. También puede ser utilizado para la galvanoplastia, en pigmentos, aleaciones, barras de control en fisión nuclear, semiconductores, estabilizantes de plásticos, etc. Debido a fuentes como la minería, industria y la quema de carbón o desechos domésticos, el cadmio pasa a la atmósfera, siendo capaz de viajar grandes distancias para posteriormente depositarse en el suelo o el agua. El cadmio se adhiere fuertemente a partículas de tierra y no se puede degradar, pero si puede cambiar de forma. Por su similitud con el zinc, puede ser incorporado por plantas, peces y otros animales.

Elevados niveles de exposición a cadmio pueden producir graves lesiones pulmonares, irritación al estómago, vómito, diarreas, enfermedades renales, fragilidad en los huesos, hipertensión, déficit de hierro en la sangre, el incremento del riesgo de padecer cáncer, entre otras (ATSDR, 2007).

1.1.1.2 Arsénico

En el ambiente está comúnmente asociado a otros elementos como Au, Ag, Cu y Sn, de tal forma que por la extracción y producción de estos metales se ha llegado a una extensa contaminación del As en un gran número de regiones mineras alrededor del mundo (Nriagu, 1994). El As se puede combinar con oxígeno, cloro y azufre para formar compuestos inorgánicos de arsénico, utilizados principalmente para la conservación de la madera. Al combinarse con carbono e hidrógeno forma compuestos orgánicos de arsénico, utilizados principalmente como plaguicidas.

El arsénico puede ser liberado al ambiente tanto en las formas orgánicas como en las inorgánicas. De estas últimas, el arseniato [As (V)] y el arsenito [As (III)] son las formas fitodisponibles en el suelo (Meharg y Hartley-Whitaker, 2002). Sin embargo, algunos microorganismos son capaces de metilar y desmetilar las especies de arsénico, pudiendo transformar especies inorgánicas en orgánicas y viceversa (Turpeinen, *et al*, 1999).

El arsénico a dosis bajas puede causar una gran variedad de alteraciones fisiológicas que van desde la aparición de alteraciones respiratorias, náuseas, vómitos, disminución de glóbulos rojos y blancos, fragilidad capilar, oscurecimiento de la piel, enrojecimiento e hinchazón, mientras que a dosis elevadas puede ser fatal (ATSDR, 2007).

1.1.1.3 Cromo

Es un elemento natural que se encuentra en rocas, plantas, animales, suelo y gases volcánicos. Las formas más comunes del cromo en el ambiente son Cr (0), Cr (III) y Cr (VI). El Cr (III) ocurre de manera natural y es considerado un elemento nutritivo esencial. El Cr (0) y el Cr (VI) se producen generalmente por procesos industriales, y este último se encuentra generalmente en forma de cromato o dicromato, siendo éstas las formas más tóxicas y altamente solubles en agua.

La movilidad del Cr (VI) es muy alta ya que los iones del cromato y dicromato se encuentran cargados negativamente en $\text{pH} > 3$, (Dragun, 1983) y por lo tanto, su adsorción a materiales minerales y orgánicos es limitada (Xu y Jaffé, 2006).

El Cr (VI) puede causar daños al sistema respiratorio, malestar estomacal, úlceras, daño al hígado y riñón. Para ciertos compuestos, el contacto con la piel puede causar ulceraciones y reacciones alérgicas. También incrementa el riesgo de padecer cáncer (ATSDR, 2007).

1.2 Sistemas Convencionales de Tratamiento de Aguas Residuales

Los procesos para el tratamiento y depuración de las aguas residuales municipales e industriales han sido divididos típicamente en tres categorías (Henry, 1999; EEA, 2006): a) El tratamiento primario; que involucra filtración y la remoción física de contaminantes (sedimentación, tamizado); b) El tratamiento secundario o biológico, consistente en la neutralización o remoción de los contaminantes microbiológicos y la materia orgánica consumidora de oxígeno (oxidación aerobia, digestión anaerobia), y c) El tratamiento terciario, que involucra métodos químicos para remover contaminantes más complejos (oxidación, reducción, precipitación, neutralización, adsorción).

Los procesos anteriores se han implementado a través de sistemas de tratamiento. En México, los lodos activados (372 plantas, 41.6% de caudal tratado), las lagunas de estabilización (622 plantas, 18.6% de caudal tratado) y el tratamiento primario avanzado (17 plantas, 13.2% de caudal tratado) son los principales sistemas utilizados (Tabla 1.1). Un sistema eficiente y de bajo costo para el tratamiento de aguas contaminadas con nutrientes y/o metales se basa en el uso de plantas y se conoce como humedal (wetland, por su nombre en inglés). Sin embargo, a pesar de sus características, en México sólo se cuentan con 110 plantas de este tipo las cuales tratan un caudal de $0.42\text{m}^3/\text{s}$, correspondiente a un 0.6% del caudal total de aguas residuales producidas en el país.

Tabla 1.1. Principales sistemas de tratamiento de aguas residuales en México registrados en el año 2006 (CONAGUA, 2007b).

PROCESO	NÚMERO	CAUDAL TRATADO (m ³ /s)	PORCENTAJE
Biodiscos	7	0.48	0.6%
Dual	9	4.05	5.4%
Filtros biológicos	43	3.49	4.7%
Lagunas de estabilización	622	13.81	18.6%
Lagunas aireadas	19	5.07	6.8%
Lodos activados	372	30.93	41.6%
Primario	15	2.09	2.8%
Primario avanzado	17	9.85	13.2%
R.A.F.A.*	122	1.06	1.4%
Reactor enzimático	50	0.09	0.1%
Tanque Imhoff	63	0.42	0.6%
Tanque séptico	82	0.16	0.2%
Wetland	110	0.42	0.6%
Zanjas de oxidación	23	2.17	2.9%
Otros	39	0.28	0.4%
Total	1593	74.37	100.0%

* Reactor anaerobio de flujo ascendente

En los Estados Unidos, para el año 2004 existían 16,583 plantas de tratamiento de aguas residuales en operación (USEPA, 2008b) que utilizaban los sistemas que se enlistan a continuación:

Lagunas de aireación	Humedales de flujo superficial	Filtros por goteo
Lagunas anaeróbicas	Absorción y regeneración con carbón activado granular	Humedales de flujo subsuperficial
Extracción de amoníaco por arrastre con aire	Estaciones de bombeo in situ	De-cloración
Ubicación de fuentes de bacterias	Bio-reactores de membrana	Filtros desnitrificantes
Floculación con balasto	Zanjas de oxidación	Desinfección para sistemas pequeños
Precipitación química	Filtración rápida	Lagunas facultativas
Remoción de nutrientes en corriente lateral	Pantallas y remoción de partículas	Filtro de nitrificación por goteo

De acuerdo con la Agencia Ambiental Europea (EEA), en ese continente en el año 2005 existía un nivel muy alto de cobertura de plantas de tratamiento de aguas residuales en los diferentes países miembros de la Comunidad Europea, desde un 60% en el grupo de los 5 nuevos países (Estonia, República Checa, Polonia, Hungría y Eslovenia), hasta un 90% de cobertura en los países del Grupo 1 (Figura 1.1). En la figura se puede observar los niveles de población conectada a los sistemas de tratamiento de agua residual, la distribución en los diferentes sistemas de tratamiento instalados (primario, secundario o terciario), así como también los niveles proyectados con la implementación de la Directriz de Tratamiento de Agua Residual Urbana, para los cuatro grupos de países que se enlistan a continuación:

- Grupo 1: Holanda, Alemania, Austria, Dinamarca, Suecia y Finlandia.
- Grupo 2: Bélgica y Luxemburgo.
- Grupo 3: Francia, Irlanda, Italia, Grecia, Portugal y España.
- 5 Nuevos: Estonia, República Checa, Polonia, Hungría y Eslovenia.

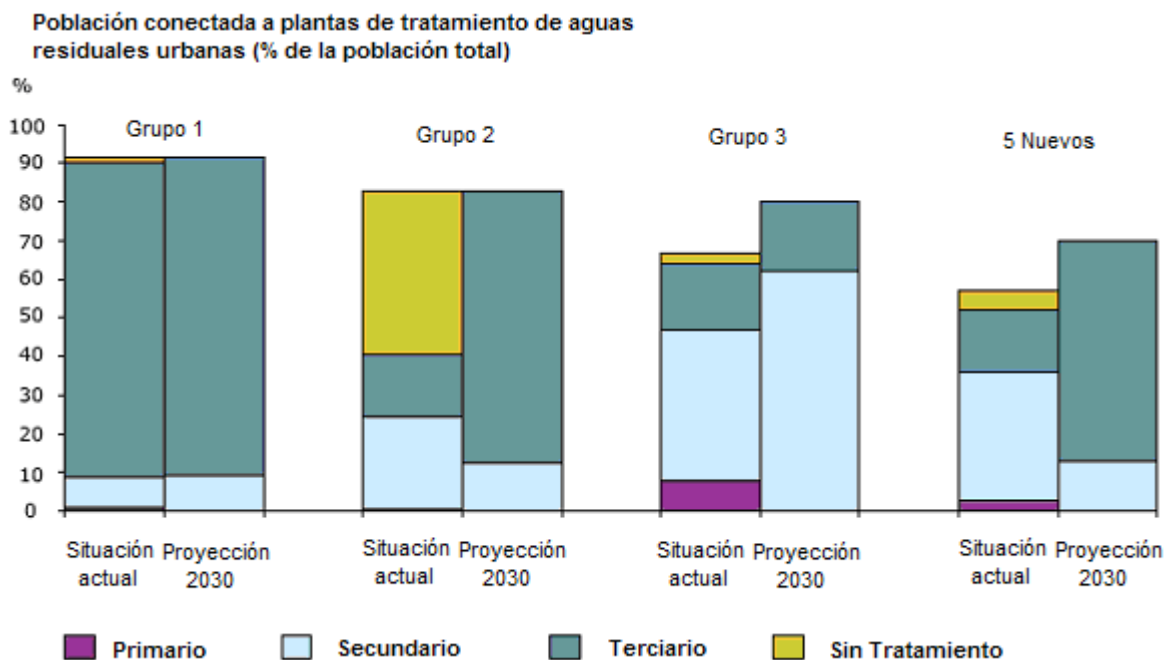


Figura 1. 2. Niveles actuales y proyectados de tratamiento del agua residual para los cuatro grupos de países que integran la Comunidad Europea (EEA, 2005).

1.2.1 Situación de las PTAR Municipales e Industriales en México

En México existe una carencia de infraestructura enfocada al tratamiento de las aguas residuales tanto municipales como industriales. En la Tabla 1.2 se muestra que de los 7.63 km³ de aguas residuales municipales generadas al año en centros urbanos, se recolectan 6.50 km³/año en el alcantarillado y se trata el 36% (2.35 km³/año) de ellas. En el caso de las aguas no municipales, donde se incluyen a las industriales, la situación es más grave, ya que de 5.77 km³ de aguas residuales generadas al año, sólo se trata un 15% (0.87 km³/año). En base a datos de la CONAGUA (2007b), en México existen 1,593 PTAR utilizadas para tratar agua residual municipal y 1,868 para agua residual industrial. Sin embargo, de las PTAR utilizadas para agua residual municipal con capacidad instalada para tratar 99.76 m³/s, sólo se utiliza el 74.5% de la misma (74.39 m³/s); mientras que para las PTAR para agua residual industrial con una capacidad instalada de 42.23 m³/s, tan sólo se utiliza el 65.5% de la misma (27.66 m³/s).

Tabla 1.2. Descargas de aguas residuales municipales y no municipales en México en el año 2006 (CONAGUA, 2007b).

CENTROS URBANOS (DESCARGAS MUNICIPALES):		
Aguas residuales	7.63	km ³ /año (242 m ³ /s)
Se recolectan en alcantarillado	6.5	km ³ /año (206 m ³ /s)
Se tratan	2.35	km ³ /año (74.4 m ³ /s)
Se generan	2.06	millones de toneladas de DBO ₅ al año
Se recolectan en alcantarillado	1.75	millones de toneladas de DBO ₅ al año
Se remueven en los sistemas de tratamiento	0.52	millones de toneladas de DBO ₅ al año
DESCARGAS NO MUNICIPALES, INCLUYENDO LA INDUSTRIA:		
Aguas residuales	5.77	km ³ /año (183 m ³ /s)
Se tratan	0.87	km ³ /año (27.7 m ³ /s)
Se generan	6.74	millones de toneladas de DBO ₅ al año
Se remueven en los sistemas de tratamiento	0.82	millones de toneladas de DBO ₅ al año

DBO₅ Demanda Bioquímica de Oxígeno a 5 días

1km³ = 1 000hm³ = mil millones de m³

1.3 Tratamiento de aguas residuales por medio de humedales.

Existe una gran variedad de definiciones que engloban el concepto de humedal y que han sido desarrolladas por diversos autores (USEPA, 1998; Knight, *et al*, 1999; Williams, 2002; Kalff, 2002). En este trabajo se definirá como humedales naturales a *“las extensiones de marismas, pantanos y turberas, o superficies cubiertas de aguas, sean éstas de régimen artificial o natural, permanentes o temporales, estancadas o corrientes, dulces, salobres o saladas, incluidas las extensiones de agua marina cuya profundidad en marea baja no exceda de seis metros”* (Ramsar, 2004).

En la actualidad, y debido a un conjunto de cualidades específicas en los componentes de los humedales que han permitido su uso para el tratamiento de suelos y aguas contaminados, se considerará en este trabajo como un humedal construido a “cualquier estanque superficial relleno con algún tipo de material de soporte (tierra, arena o grava) y plantado con vegetación tolerante a condiciones de saturación de agua, con el objetivo de tratar la contaminación de suelos y agua” (USEPA, 1998; Prasad, 2003; Kadlec y Knight, 1996). En este documento nos referiremos esencialmente a los humedales construidos como sistemas utilizados para la remoción de sustancias contaminantes del agua.

1.3.1 Principales Tipos y Características de Humedales Naturales y Construidos

Entre los humedales naturales se reconocen cinco tipos principales (Ramsar, 2004): a) Marinos (humedales costeros, inclusive lagunas costeras, costas rocosas y arrecifes de coral); b) Estuarinos (incluidos deltas, marismas de marea y manglares); c) Lacustres (humedales asociados con lagos); d) Ribereños (humedales adyacentes a ríos y arroyos), y e) Palustres (es decir, "pantanosos" - marismas, pantanos y ciénagas).

En el caso de los humedales construidos, son utilizados comúnmente tres tipos generales (USEPA, 1999; Knight, *et al*, 1999; Orozco, *et al*, 2006): a) Los humedales de flujo de agua superficial (FAS); b) Los humedales de flujo de agua subsuperficial (FASS), y c) Los sistemas de tratamiento de plantas acuáticas flotantes (PAF).

Las principales diferencias entre los humedales naturales y los construidos son estructurales: los primeros tienen más probabilidad de tener una comunidad de plantas bien estructurada y diversa, así como de incluir un componente orgánico de tierra mejor desarrollado que los humedales construidos. Una desventaja de los humedales construidos es que están sujetos a variabilidad en los afluentes y en la profundidad del agua, mientras que la eficiencia hidráulica (la habilidad de utilizar el área total del humedal en el proceso de tratamiento del agua) de éstos puede optimizarse mejor que en los humedales naturales (USEPA, 1999).

1.3.2 Humedales de Flujo de Agua Superficial

En la construcción de un humedal FAS se requiere una tubería de distribución (afluente), una zona intermedia con tierra de baja permeabilidad en donde se hacen crecer las plantas, y una tubería de salida (efluente) (Figura 1.3).

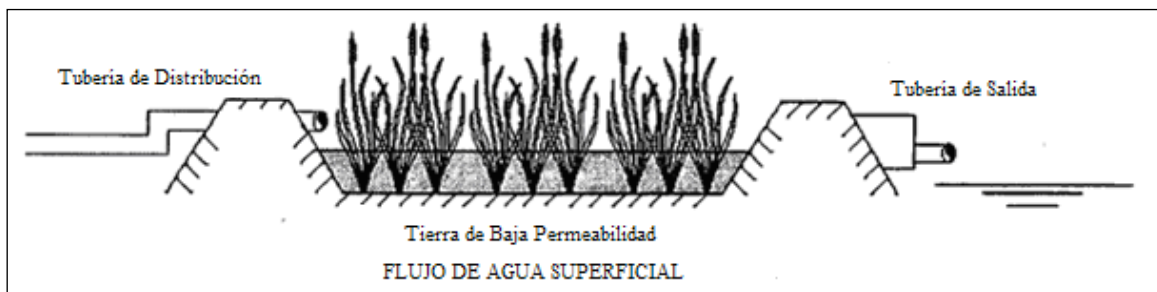


Figura 1.3 Esquema representativo de un humedal FAS. Tomada de Kadlec y Knight (1996).

Este tipo de humedales que han sido utilizados en los Estados Unidos desde los años 70's, funcionan como sistemas intensivos de tratamiento de aguas residuales, en donde las partículas medidas como Sólidos Suspendidos Totales (SST) son atrapadas y tienden a precipitarse debido a la acción del viento y las bajas velocidades de flujo; los contaminantes insolubles medidos como Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅), nitrógeno y fósforo totales, y niveles traza de metales se incorporan a los ciclos biogeoquímicos dentro de la columna de agua y el suelo superficial del humedal. Los materiales coloidales están sujetos a floculación y son removidos parcialmente con la fracción de partículas descrita anteriormente. Simultáneamente, el suelo y las poblaciones de plantas y microorganismos a través del humedal absorben otra fracción de los contaminantes disueltos, como los metales traza (USEPA, 1999; Knight, *et al*, 1999; Williams, 2002).

Las principales especies de plantas que se utilizan en este tipo de humedal son las siguientes: *Typha*, *Scirpus*, *Juncus*, *Carex* y *Pragmites* (emergentes); *Potamogeton*, *Vallisneria*, *Rupia*, *Nuphar* y *Elodea* (sumergidas), y *Lemna*, *Eichornia crassipes*, *Azolla* y *Wolffia* (flotantes) (Pucci, 2003; Álvarez y Bécares, 2006).

Los humedales de flujo de agua superficial suelen ser de menor costo que los humedales FASS y que los PAF; sin embargo, entre sus principales desventajas se encuentran altas tasas evaporación del agua, que propician el desarrollo de vectores transmisores de enfermedades, así como la aparición de olores desagradables por la descomposición de la materia orgánica.

1.3.3 Humedales de Flujo de Agua Subsuperficial

Los componentes de un humedal FASS aunque son similares al de un humedal FAS, se diferencian en que el material vegetal se desarrolla sobre una cama de considerable profundidad de medio poroso y presenta una capa o membrana impermeable que impide la filtración del agua tratada al subsuelo. Además, el diseño de este sistema asume que el nivel del agua en la cama permanecerá por debajo del nivel del medio poroso y el flujo del agua puede ser horizontal (sistema usado en Estados Unidos) o vertical (sistema usado en Europa) (Figura 1.4).

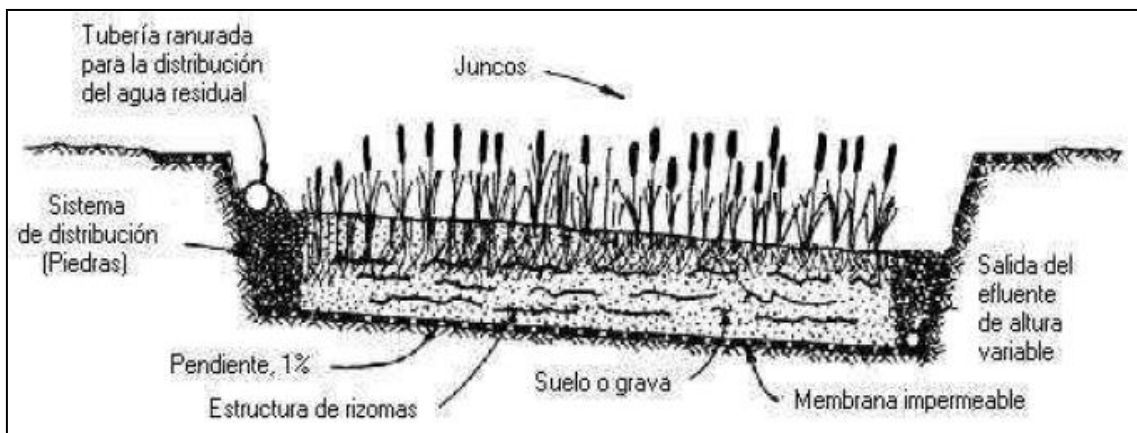


Figura 1.4. Esquema representativo de un humedal FASS (Lara, 1999).

Algunas ventajas que presenta el humedal FASS sobre un humedal FAS es que el nivel del agua se mantiene por debajo de la superficie del medio poroso, existiendo un mínimo riesgo de producción de olores desagradables, exposición y reproducción de vectores de enfermedades; además, el medio poroso incrementa el área superficial para el tratamiento que en el humedal FAS, de tal forma que las respuestas serán más rápidas. Por último, la posición subsuperficial del agua y la acumulación de materia vegetal en la cama ofrecen gran protección termal en climas fríos (USEPA, 1993).

Los humedales FASS se implementaron como tecnología de tratamiento de aguas residuales en Europa Occidental durante los años 60's, basados en las investigaciones de Siedel (1966) y Kikuth (1977). Los primeros trabajos desarrollados en los Estados Unidos comenzaron a inicios de los 80's con las investigaciones de Wolverton y col. (1983) y Gersberg y col. (1985). Estos humedales son altamente eficientes en la remoción de DBO₅, SST, nitrógeno, fósforo y otros compuestos orgánicos más complejos (USEPA, 1993; Williams, 2002; Pucci, 2003). Las especies más utilizadas para este tipo de humedales son *Scirpus*, *Phragmites* y *Typha*.

1.3.4 Humedales de Plantas Acuáticas Flotantes

Presentan las mismas características de diseño que los humedales FAS, sin embargo, la modificación más importante consiste en el tipo de plantas utilizadas en el sistema, empleando especies tales como *Lemna minor*, *Eichornia crassipes* y nenúfares, entre otras. Son sistemas que presentan mayores desventajas que los dos anteriores, ya que las especies de plantas suelen ser muy invasivas y perjudican el funcionamiento del humedal al conformar grandes colonias, ya que limitan la difusión de oxígeno desde la atmósfera y bloquean el paso de luz para las plantas sumergidas, y requieren de un mayor mantenimiento (Curt Fernández, 2005).

1.3.5 Principales Parámetros Considerados en el Diseño de Humedales Construidos

Cada uno de los diferentes tipos de humedales posee parámetros específicos de diseño, sin embargo, existen ciertas características generales que deberán considerarse en el diseño de un humedal construido, y que se describen a continuación:

1.3.5.1 Hidrología

Es considerado el factor más importante en el mantenimiento del funcionamiento y la estructura de un humedal, ya que influye y controla directamente la disponibilidad del agua y los nutrientes, así como las condiciones aeróbicas y anaeróbicas, tanto en el suelo como en la columna de agua, además, las características físico-químicas del agua, la salinidad, las condiciones del suelo, y la velocidad y profundidad del agua. En cambio, las características de las plantas que constituyen el humedal tienen influencia directa sobre la hidrología del mismo a través de procesos como la evapotranspiración, la intercepción de la precipitación, el bloqueo de vientos y el desarrollo de microclimas dentro del humedal, entre otros (USEPA, 1999).

La hidrología de un humedal se caracteriza a través de su “balance hídrico”; éste consiste en cuantificar entradas y salidas de agua, hacia y del humedal, así como la capacidad de almacenaje del mismo. Tanto en los humedales FAS como en los FASS, las fuentes principales de aporte de agua son a través de un flujo constante de agua residual, la precipitación y las escorrentías; en cambio, las pérdidas se presentan vía la descarga a través del efluente y la evapotranspiración. El balance hídrico para un humedal puede establecerse como (Ec. 1.1; USEPA, 1999):

$$\frac{dV}{dt} = Q_i - Q_o + (P - ET - I)A \quad (1.1)$$

Donde:

dV/dt , tasa de cambio en el volumen de agua (V) en el humedal respecto al tiempo (t), [L^3/t],

Q_i , gasto del afluente, [L^3/t],

Q_o , gasto del efluente, [L^3/t],

P, tasa de precipitación, [L/t],

ET, tasa de evapotranspiración (combinación de la pérdida de agua por evaporación de la superficie de agua y la transpiración de la vegetación), [L/t],

I, infiltración, [L/t], y,

A, área superficial del humedal, [L^2].

(L) es una unidad de longitud

Cada uno de los términos en este balance hídrico pueden ser importantes para un humedal construido, sin embargo, raramente todos los términos contribuyen significativamente. Dicho balance debe establecerse en cada caso particular.

1.3.5.2 Hidráulica

Se refiere al movimiento del agua a través del humedal. Un diseño hidráulico deficiente puede provocar problemas con la calidad del agua, olores y la presencia de vectores transmisores de enfermedades. Los factores hidráulicos que deben considerarse en el diseño de un humedal son: a) la profundidad del agua, un humedal FAS puede ser diseñado para permitir que se opere en un amplio rango de profundidades que van de 10 cm hasta 1.5 m. La profundidad en un humedal se reducirá con el tiempo conforme se empiece a formar un sedimento, y asimismo lo hará el volumen hidráulico efectivo; b) el área superficial, referida como la parte visible de agua observada desde una perspectiva superior del humedal, aunque cuantificarla es muy difícil; c) el volumen del agua, considerada como la cantidad potencial de agua que puede encontrarse en el humedal; d) la porosidad del humedal, ya que los residuos, vegetación y detritus ocupan una parte de la columna de agua, reduciendo el espacio disponible para la misma; por lo tanto, la porosidad (ϵ) es el índice del volumen teórico respecto al volumen actual disponible para el agua en el humedal, y e) el tiempo de retención hidráulico (t), que es la relación entre el flujo del sistema y el volumen de agua disponible del humedal para que ésta fluya, tomando en cuenta el efecto de la porosidad. Se calcula por medio de la ec. 1.2 (USEPA, 1999):

$$t = \frac{V\epsilon}{Q} \tag{1.2}$$

Donde:

t, tiempo de retención hidráulico, [t],

V, volumen del humedal, [L³],

ϵ , porosidad del humedal, y,

Q, flujo, [L³/t].

1.3.6 Procesos Involucrados en la Remoción de Contaminantes en los Humedales Construidos

Los humedales son sistemas complejos formados por agua, sustratos, plantas (vasculares y algas), restos de material vegetal que cae sobre el sistema, invertebrados y una gran diversidad de microorganismos (principalmente bacterias). Por lo tanto, los mecanismos involucrados en el mejoramiento de la calidad del agua son numerosos y a menudo se encuentran interrelacionados (USEPA, 1998).

Los procesos en los humedales incluyen la sedimentación de partículas en suspensión, la filtración y precipitación química a través del contacto del agua con el sustrato y los restos de material vegetal, la transformación química, la adsorción y el intercambio iónico en las superficies de plantas, sustrato, sedimento y basura; la degradación y transformación de contaminantes por microorganismos y plantas, la captación y transformación de nutrientes por microorganismos y plantas, la depredación y muerte natural de los patógenos. Los humedales más efectivos son aquellos que fomentan estos mecanismos.

Los humedales FAS tienden a funcionar en secuencia siguiendo un conjunto de procesos que involucran una sedimentación discreta, floculación y descomposición béntica, esta última, ocurre en el fondo del humedal (USEPA, 1999), resultando ser sumamente efectivos para la disminución de la DBO₅ y los SST. En el caso del nitrógeno, se ha encontrado que la concentración de salida es mayor a la de entrada, demostrando una amplia distribución de varias especies de nitrógeno dentro del sistema, lo que indica que la dinámica del nitrógeno se ve afectada por la carga del afluente, el grado de cobertura vegetal y la madurez de la vegetación emergente. Respecto al fósforo, se ha comprobado que éste sigue un patrón estacional, y que la capacidad del humedal FAS para removerlo depende de la forma química del fósforo, el tipo y densidad de plantas acuáticas, el índice de carga de fósforo y el clima (USEPA, 1999).

En el caso particular de los metales, hay indicios de que una fracción del metal que se introduce al sistema será inmovilizado y removido eficientemente a través de la captación por las plantas y la remoción por el suelo (Knight, 1999; Williams, 2002; Prasad, 2003; Gopal, 2003; Vymazal, 2005; Curt Fernández, 2005; Le Duc y Terry, 2005; Pilon Smits, 2005; Weiss, 2006). Los estudios revelan una gran capacidad de diferentes especies de plantas de los humedales para la remoción de cadmio (Ye, *et al*, 1997; Kumar y Prasad, 2003; Maddison, *et al*, 2005; Benavides, *et al*, 2005), arsénico (Carbonell-Barrachina, *et al*, 1999; Koch, *et al*, 2000; Meharg y Hartley-Whitaker, 2002; Keon Blute, *et al*, 2004; Aksorn y Visoottiviseth, 2004; Buddhawong, *et al*, 2005) y cromo (Makos y Hrcir, 1995; Mel Lytle, *et al*, 1998; Cervantes, *et al*, 2001; Buddhawong, *et al*, 2005; Xu y Jaffé, 2006).

Los humedales FASS pueden remover eficientemente DBO₅ y SST, produciendo resultados equivalentes a efluentes de tratamiento terciario (2 a 7 mg/L en el caso de la DBO₅ y menos de 20 mg/L en los SST, USEPA, 1993). La remoción de nitrógeno a niveles mínimos es posible prolongando el tiempo de retención y el oxígeno, con el objetivo de estimular las reacciones de nitrificación. Los contaminantes en forma de partículas se incorporan en los ciclos biogeoquímicos de la columna de agua. Simultáneamente, una fracción de la DBO₅ disuelta, de orgánicos y de metales son sorbidos por el suelo y poblaciones activas de plantas y microorganismos (Knight, *et al*, 1999).

La remoción física de la DBO₅ ocurre rápidamente a través de la sedimentación y el entrapamiento de las partículas de materia en los espacios vacíos que se encuentran en el material de soporte. La parte soluble de la DBO₅ es removida por el crecimiento de microorganismos en las superficies del material de soporte y también al ligarse a las raíces y rizomas de las plantas que penetran en el material de soporte. La remoción de los SST es muy eficiente en este tipo de humedales, ya que ocurre en los primeros metros adyacentes al afluente.

El nitrógeno orgánico que entra a los humedales FASS está típicamente asociado con partículas tales como sólidos del agua residual o algas; los procesos de mineralización y descomposición en el humedal, transformarán el nitrógeno orgánico en amoníaco. Se cree que la nitrificación biológica seguida de la desnitrificación es la mayor ruta de remoción del nitrógeno en los humedales (USEPA, 1993).

Los procesos que participan en la remoción de metales en los humedales están relacionados con la capacidad de las plantas para remover nutrientes del suelo y del agua, incorporándolos en su biomasa. La capacidad de captación y bioacumulación de metales en los tejidos vegetales, se presenta como una interesante alternativa en la remoción de contaminantes, orgánicos e inorgánicos, y es denominada fitorremediación.

1.3.6.1 Fitorremediación

La fitorremediación se define como “el uso de plantas, incluyendo árboles y pastos, para remover, destruir o secuestrar contaminantes peligrosos del aire, agua, suelo, residuos sólidos y líquidos” (Cunningham y Berti, 1993; Raskin, *et al*, 1994; Salt, *et al*, 1998; Pilon-Smits y Pilon, 2002; Prasad, 2003; Pilon-Smits, 2005). La fitorremediación es una tecnología que utiliza diversos procesos y mecanismos de las plantas para acumular, complejar, volatilizar o degradar contaminantes orgánicos e inorgánicos (Cherian y Oliveira, 2005). A continuación se describen algunas ventajas de la fitorremediación con respecto a otras metodologías de remoción de metales: a) ayuda a disminuir el riesgo asociado a los contaminantes en el ambiente; b) es una tecnología de bajo costo, y c) mejora la calidad y restablece la funcionalidad cuando se aplica a la remediación de suelos. Algunas desventajas de la metodología incluyen: a) requiere de períodos largos de tiempo; b) las plantas deben poseer tolerancia a los tóxicos a remover y c) la biomasa contaminada requiere de ser tratada y confinada (Pilon-Smits, 2005).

La tecnología de la fitorremediación puede ser aplicada en sustratos sólidos, líquidos o gaseosos. Entre los ejemplos de suelos y sedimentos que han sido fitoremediados se encuentran complejos militares (TNT, metales y compuestos orgánicos), campos agrícolas (herbicidas, pesticidas, metales y arsénico), sitios industriales (compuestos orgánicos, metales y arsénico) y minas (metales) (Salt, *et al*, 1998; Ferro, *et al*, 1999; Bañuelos, 2000; Pilon-Smits y Pilon, 2002; Winter Sydnor, 2002; Rock, 2003; Prasad, 2003; Pilon-Smits, 2005; Cherian y Oliveira, 2005; LeDuc y Terry, 2005).

Entre los tipos de aguas que pueden ser fitorremediadas se encuentran las municipales (nutrientes, metales), escorrentías y drenaje agrícola (nutrientes, metales, arsénico, boro, selenio, pesticidas orgánicos y herbicidas), agua residual industrial (metales, selenio, arsénico) y drenaje ácido de minas (metales) (Hansen, *et al*, 1998; USEPA, 1999; Horne, 2000; Ferro, *et al*, 2001).

1.3.6.2 Mecanismos Involucrados en la Fitorremediación

La fitorremediación puede ser aplicada tanto a contaminantes orgánicos como inorgánicos. Sin embargo, a diferencia de los contaminantes orgánicos, los metales no pueden ser degradados a formas más simples, por lo tanto, las estrategias de fitorremediación para metales (ver Figura 1.5) están basadas en la estabilización (inmovilización/adsorción), la acumulación (extracción) y, en algunos casos, la volatilización de elementos como el mercurio o el selenio (Salt, *et al*, 1998; Pilon-Smits y Pilon, 2002).

En sistemas biológicos, las elevadas concentraciones de metales se vuelven tóxicas y conducen a la producción de especies reactivas de oxígeno y radicales libres. Algunos iones metálicos son particularmente reactivos y pueden interferir con la estructura y función de proteínas (Cherian y Oliveira, 2005).

Ciertas especies de plantas pueden tolerar mejor a los metales debido a que cuentan con mecanismos celulares de respuesta que incluye entre uno de sus componentes principales la biosíntesis de glutatión (GSH), el cual juega un papel importante en la detoxificación de metales pesados. El GSH puede formar complejos con metales, y en su forma reducida desempeña un papel protector de la planta ante situaciones de estrés oxidativo. El GSH también es un precursor directo de fitoquelatinas (PCs), que estructuralmente corresponden a formas poliméricas de glutamato y cisteína, y que desempeñan un papel determinante en los procesos de acomplejamiento y detoxificación de iones metálicos (LeDuc y Terry, 2005).

A continuación se realiza una breve descripción de los mecanismos que se generan para la fitorremediación de metales: a) la acumulación de elementos tóxicos en el tejido radicular y/o aéreo, seguido de la cosecha de dicho tejido se conoce como *fitoextracción* (Salt, *et al*, 1998; Blaylock y Huang, 2000; Pilon-Smits, 2005). Después de cosechar la biomasa de la raíz o tejido vegetativo, el material puede ser incinerado, seguido del reciclamiento de los metales si son económicamente viables (*fitominería*) (Chaney, *et al*, 2000; Pilon-Smits, 2005); b) las plantas y los organismos encontrados en la rizósfera de las plantas pueden utilizarse en humedales construidos o medios hidropónicos como filtros, para luego ser cosechados: a esto se le conoce como *rizofiltración* (Salt, *et al*, 1998; Dushenkov y Kapulnik, 2000; Pilon-Smits, 2005). La extracción de los contaminantes a través de las raíces de las plantas se produce en la misma forma en que son tomados los nutrientes (Meagher y Heaton, 2005); c) la *fitoestabilización* de metales involucra su retención como formas químicas estables en el ambiente de la raíz, reduciendo de esta forma su captación y su toxicidad (Salt, *et al*, 1998; Berti y Cunningham, 2000; Pilon-Smits, 2005). La desventaja de este método es que sólo se previene la movilidad del contaminante, más no disminuye su concentración en el ambiente, ya que el metal se convierte en una forma química menos riesgosa para el mismo; y por último, d) ciertos metaloides y el mercurio pueden ser convertidos en formas gaseosas por las plantas y emitidos a la atmósfera. A esto se le conoce como *fitovolatilización* (Hansen, *et al*, 1998; Salt *et al*, 1998; Pilon-Smits, 2005).

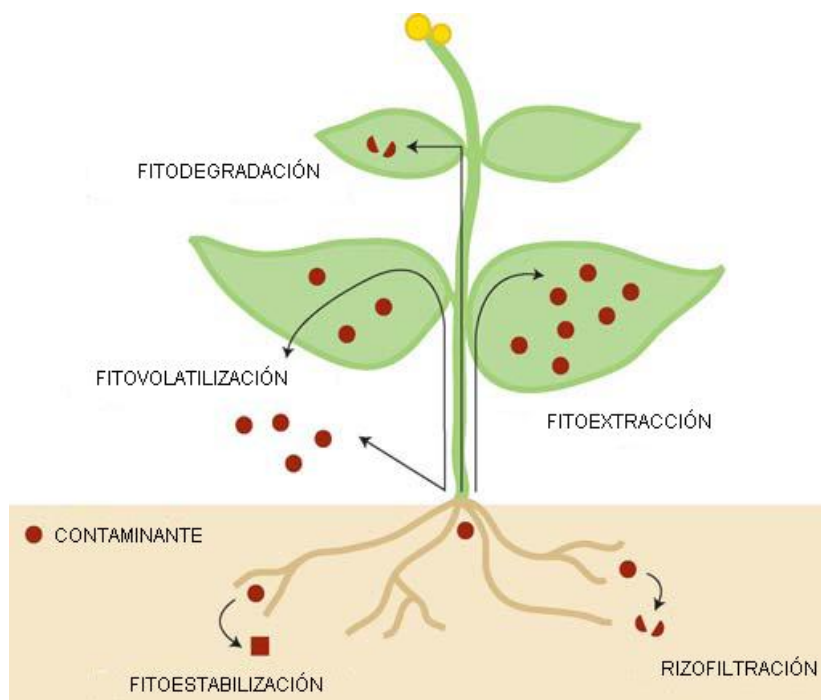


Figura 1.5. Mecanismos de remoción de contaminantes en las plantas (Pilon-Smits, 2005).

En los humedales, las plantas pueden remover y acumular metales de la solución por fitoextracción. Sin embargo, los metales también pueden ser precipitados o eliminados de la solución por intercambio iónico o por adsorción sobre compuestos orgánicos e inorgánicos (Manios, *et al*, 2003).

La tecnología basada en el uso de humedales para remover metales puede tener dos propósitos: 1) estabilizar los contaminantes, 2) remover los contaminantes. La primera tiene el propósito de reducir la movilidad, biodisponibilidad y/o toxicidad del contaminante, es decir se basa en la fitoimmobilización y en la fitoestabilización del contaminante. La segunda se basa en la extracción del contaminante del medio donde se encuentra y su bioacumulación en las plantas (fitoextracción).

1.3.7 Características de las Plantas

Las especies de plantas que se seleccionan para la fitorremediación se basan en su potencial para evapotranspirar agua del subsuelo, en sus altos índices de crecimiento y desarrollo, la profundidad de su zona radicular pero sobre todo en su habilidad para bioacumular contaminantes del medio (Glass, 1999, 2000; Ernst, 2000; Raskin y Ensley, 2000). Las especies fitoremediadoras más usadas en los humedales son las plantas emergentes de las familias *Scirpus*, *Eleocharis*, *Cyperus*, *Juncus*, *Phragmites* y *Typha*, ya que además de poseer las características antes mencionadas, también cumplen con los requerimientos de tolerar inundación continua y una exposición a concentraciones elevadas y a veces variables de contaminantes (Ye, *et al*, 1997).

1.3.7.1 Características de las plantas de *Typha*

La especie vegetal *Typha latifolia*, también conocida como espadaña, pertenece a la familia de las *Typhaceae*, son plantas herbáceas perennes rizomatosas (con tallo subterráneo de varias yemas, que crece de manera horizontal emitiendo raíces y nuevos brotes), con largas hojas verdes y flores de forma de salchicha en su parte apical. En su estado adulto alcanzan alturas entre 3.5–4.0 m. Las plantas de la especie *latifolia* poseen una inflorescencia que no presenta separación entre el polen y el pistilo, mientras que las de la especie *domingensis* presentan un tramo desnudo en el eje entre el polen y el pistilo de entre 1 a 8 cm (ver Figura 1.6).

Las plantas de *Typha* siempre se encuentran en o cerca del agua, en pantanos, pozos y lagos. Son plantas indicadoras por excelencia de la salud de los humedales. Pueden tolerar inundaciones estacionales, pobres condiciones de suelo y salinidad moderada. Con grandes afluentes de nutrientes o aguas naturales, las espadañas son invasoras agresivas (USDA-NRCS, 2006). Su distribución en el mundo va desde las zonas boreales hasta las zonas tropicales. La planta puede producir de cientos a miles de semillas que son eficientemente dispersadas y germinan en suelos escasamente húmedos o en aguas muy superficiales.

Typha se ha utilizado en la preservación de hábitats y en la restauración de humedales. Sin embargo, el uso de esta planta en sistemas acuáticos preservados puede favorecer la invasión de canales, reservorios, campos de cultivos, etc. La planta puede producir efectos nocivos en lagos con fines de recreación, reducir la biodiversidad y desplazar especies deseables en ciertos hábitats (Smith, 2009).

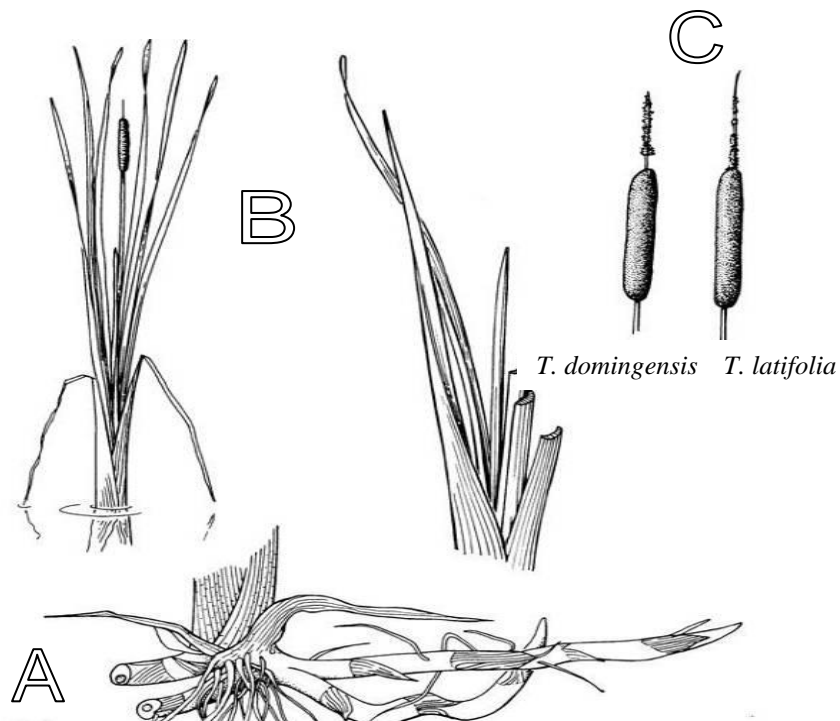


Figura 1.6. Características morfológicas de (A) raíz, (B) hojas y (C) flores de las plantas de *Typha* (*domingensis* y *latifolia*) (IFAS, 1990).

1.4 Estudios Previos del Uso de Humedales para la Remoción de Elementos traza de Aguas Contaminadas

A través de los años, los investigadores han encontrado que la fitorremediación aplicada en humedales ha generado resultados muy satisfactorios para la remoción de contaminantes en ambientes acuáticos. Así, según lo referido por Gopal (2003), el uso de los humedales se ha enfocado principalmente a estudios *in situ* y en laboratorio, para dilucidar los mecanismos de remoción de los contaminantes, evaluar la efectividad de los distintos tipos de humedales, comprobar la capacidad de diferentes especies de plantas para la fitorremediación, entre otros aspectos de interés, tal como se muestra en la Figura 1.7. La mayoría de la ciencia de los humedales emergió desde principios del siglo XX, y especialmente durante el Programa Biológico Internacional (IBP, 1964–74), a través de una colaboración entre sus secciones de ecosistemas terrestres y acuáticos, así como con la de procesos de producción.

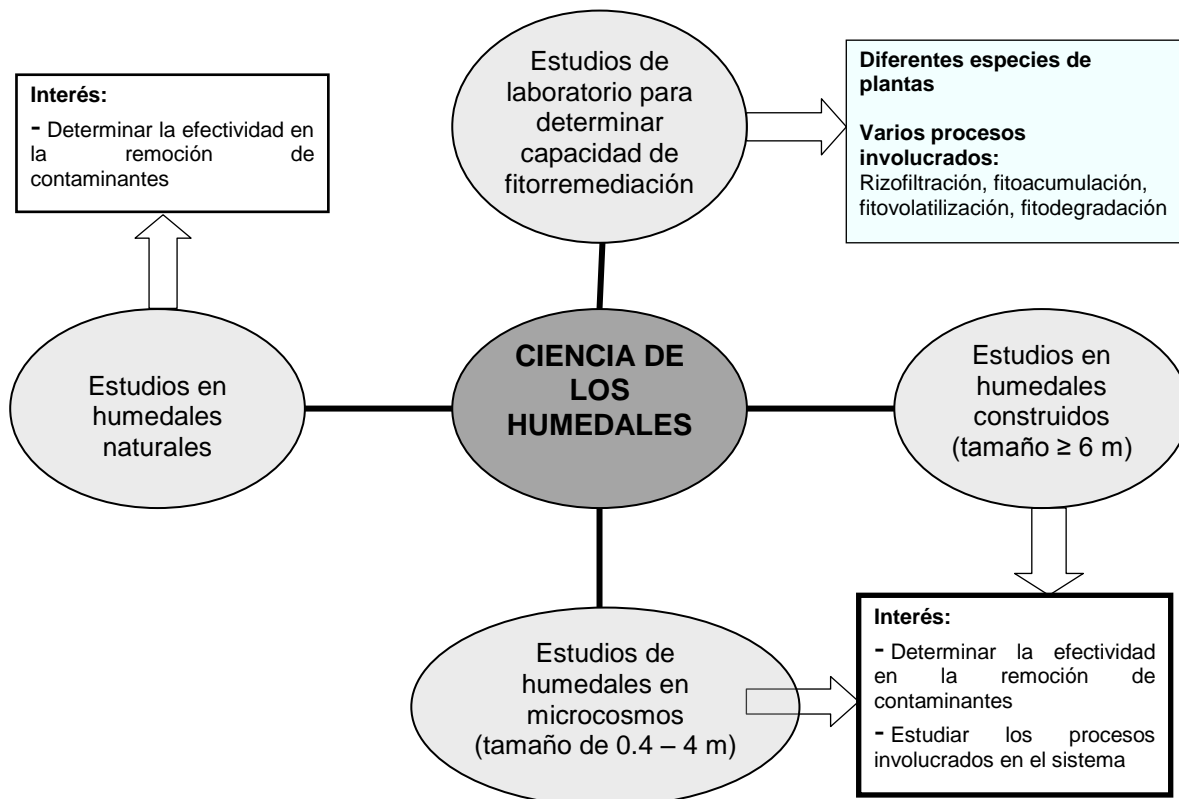


Figura 1.7. Esquema de los estudios sobre la Ciencia de los Humedales (elaborada a partir de la información proporcionada por Gopal, 2003).

Como se muestra en la Tabla 1.3, con respecto a los estudios *in situ*, la gran gama de aplicaciones de los humedales les ha dado la capacidad de ser utilizados en el control de aguas residuales domésticas (Nelson, *et al*, 2003; Maddison, *et al*, 2005), industriales (Knight, *et al*, 1999; Vymazal, 2005; Orozco, *et al*, 2006) y de escorrentías de lluvia (Fritioff y Greger, 2003). La mayor parte de estos estudios se enfocaron en valorar la capacidad de los humedales para tratar elementos tóxicos, sin involucrar los procesos responsables para ello; caso contrario a los estudios que trataron de dilucidar los procesos involucrados en los humedales realizados en laboratorio, que van desde los efectos en la remoción de los elementos tóxicos debido a los distintos tipos de plantas utilizados (Keon, *et al*, 2004; Angeloni, *et al*, 2006; Xu y Jaffé, 2006), hasta los factores hidráulicos, hidrológicos y de construcción, que afectan su rendimiento (Garver, *et al*, 1988; Stein y Hook, 2005; Marsilli-Libelli y Checchi, 2005; Álvarez y Bécares, 2006; Suliman, *et al*, 2007; Akratos y Vassilios, 2007).

Estudios realizados en la Universidad Autónoma de San Luis Potosí han demostrado que en soluciones simples (de un sólo elemento) la *Typha latifolia* es capaz de remover cromo en concentraciones de 0,5-4 mg/L, a pH cercano a 6 y traslocarlo al tejido aéreo (Carranza-Álvarez, *et al*, 2008; Pecina-Martínez, 2008; Leura, 2009); mientras que el cadmio lo ha removido en concentraciones de 2.5-7,5 mg/L y acumulado principalmente en la raíz, aunque una pequeña fracción pudo haber sido traslocada al tallo. En mezcla con plomo, la remoción de Cd disminuyó más de un 50% (Alonso-Castro, 2005; Pecina-Martínez, 2008). Los experimentos se realizaron a pH 6 y se observó que el pH disminuye ligeramente cuando las plantas están en presencia de cadmio y aumenta hasta en dos unidades en presencia de cromo hexavalente. Finalmente, Leura (2009) observó que la *Typha latifolia* tiene una baja capacidad de remoción de arsénico (1 mg/L) a pH cercano a la neutralidad, pero tiene una mejor capacidad de remoción en soluciones ácidas (pH<5).

En estos estudios, en general, los experimentos se hicieron por exposición de las plantas a una dosis única del contaminante en sistemas tipo lote, en soluciones simples del contaminante o en mezcla para Pb-Cd, y más recientemente (Leura, 2009), para Cd-As-Cr. Los sistemas en lote con soluciones simples de elementos tóxicos no son los adecuados para la comprensión de la capacidad de los humedales en la remoción de metales en mezcla, ya que esta última es la forma en que usualmente se utilizan a los humedales para el tratamiento de efluentes contaminados.

Tabla 1.3. Estudios sobre humedales naturales y construidos y su capacidad de remoción de contaminantes.

	Estudios que presentan experiencias prácticas y resultados del funcionamiento de diferentes tipos de humedales	Estudios que discuten la ciencia y los procesos involucrados en el sistema de tratamiento
Humedales Naturales	Fritioff, A., M. Greger. <i>Aquatic and terrestrial plants species with potential to remove heavy metals from Stormwater</i> . International Journal of Phytoremediation, 5(3): 211 – 224. 2003.	Angeloni, N., et al. <i>Effects of an invasive cattail species (Typha x glauca) on sediment nitrogen and microbial community composition in a freshwater wetland</i> . FEMS Microbiol Lett, 263: 86 - 92. 2006.
		Rejmánková, E. <i>Nutrient resorption in wetland macrophytes: comparison across several regions of different nutrient stratus</i> . New Phytologist, 167: 471 - 482. 2005.
Humedales construidos a nivel microcosmos	Colín Cruz, A., et al. <i>Humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales</i> . CIRA. México. 2004	Álvarez, J., E. Bécades. <i>Seasonal decomposition of Typha latifolia in a free-water surface constructed wetland</i> . Ecological Engineering, 28(2): 99 - 105. 2006.
	Tayade, S., et al. <i>Feasibility Study of Constructed Wetland for Treatment of Municipal Water</i> . NEERI. India. 2005	Marsili-Libelli, S., N. Checchi. <i>Identification of dynamic models for horizontal subsurface constructed wetlands</i> . Ecological Modelling, 187: 201 – 218. 2005.
	Mant, C., et al. <i>Phytoremediation of chromium by model constructed wetland</i> . Bioresource Technology, 97(15): 1767 – 1772. 2006.	Stein, O. R., P. B. Hook. <i>Temperature, plants and oxygen: How does season affect constructed wetland performance?</i> Journal of Environmental Science and Health, 40: 1331 – 1342. 2005.
	Scholz, M., et al. <i>Mature experimental constructed wetlands treating urban water receiving high metal loads</i> . Biotechnol. Prog, 18: 1257 – 1264. 2002.	Keon, N., et al. <i>Arsenic sequestration by ferric iron plaque on cattail roots</i> . Environ. Sci. Technol., 38: 6074 – 6077. 2004.
	Weiss, J., M. Hondzo, D. Biesboer, M. Semmens. <i>Laboratory study of heavy metal phytoremediation by three wetland macrophytes</i> . International Journal of Phytoremediation, 8: 245 – 259. 2006.	Makos, J. D., D. C. Hrncir. <i>Chemistry of Cr (VI) in a constructed wetland</i> . Environ. Sci. Technol., 29: 2414 – 2419. 1995.
	Yang Q., et al. <i>Contaminant removal of domestic wastewater by constructed wetlands: Effects of plant species</i> . J. Integr. Plant Biol. 49(4): 437 - 446. 2007.	Xu, S., P. R. Jaffé. <i>Effects of plants on the removal of hexavalent chromium in wetland sediments</i> . J. Environ. Qual. 35: 334 - 341. 2006.
	Buddhawong, S., et al. <i>Removal of arsenic and zinc using different laboratory model wetland systems</i> . 2005.	Garver, E. G., et al. <i>Seasonal patterns in accumulation and partitioning of biomass and macronutrients in Typha spp</i> . Aquatic Botany, 32(1-2): 115 - 127. 1988.
		Akratos, C., T. Vassilios. <i>Effect of temperature, HRT, vegetation and porous media on removal efficiency of pilot-scale horizontal subsurface flow constructed wetlands</i> . Ecological Engineering, 29(2): 173 – 191. 2007.
Humedales construidos a nivel planta piloto	Nelson, E., et al. <i>Constructed wetlands for removal of heavy metals from NPDES outfall effluent</i> . US Department of Energy. 2003.	Suliman, F., et al. <i>Hydraulic performance of horizontal subsurface flow constructed wetlands for different strategies of filling the filter medium into the filter basin</i> . Ecological Engineering, 29(1): 45 – 55. 2007.
	Orozco, C., et al. <i>Humedal subsuperficial de flujo vertical como sistema de depuración terciaria en el proceso de beneficiado de café</i> . Hig. Sanid. Ambient, 6: 190 – 196. 2006.	
	Knight, R. L., Kadlec, R. H., Ohlendorf, H. M. <i>The use of treatment wetlands for petroleum industry effluents</i> . Crit. Rev. Environmental Science & Technology, Vol. 33, Nº 7: 973 – 980. 1999.	
	Vymazal, J. <i>Removal of heavy metals in a horizontal sub-surface flow constructed wetland</i> . Journal of Environmental Science and Health, 40: 1369 – 1379. 2005.	
	Maddison, M., et al. <i>Cattail population in wastewater treatment wetlands in Estonia: biomass production, retention of nutrients and heavy metals in phytomass</i> . Journal of Environmental Science and Health, 40: 1157 – 1166. 2005.	
	Hadad, H. R., et al. <i>Macrophyte growth in a pilot-scale constructed wetland for industrial wastewater treatment</i> . 2005.	

Capítulo 2

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

2.1 Justificación

La remoción de elementos tóxicos del agua requiere de procesos eficientes y de bajo costo. En los últimos años se ha presentado un auge en los sistemas de humedales para remover contaminantes específicos como nutrientes y tóxicos orgánicos e inorgánicos. Su principal ventaja radica en una atractiva relación costo–efectividad–beneficios por sobre otros tipos de tratamientos. Sin embargo, entre las limitantes que pueden presentarse con el uso de humedales se encuentran el requerimiento de una gran superficie para su construcción, la inconsistencia de su capacidad de remoción y el hecho de necesitar una mínima y perenne cantidad de agua para la supervivencia del material vegetal que se encuentre en él (USEPA, 1998).

Con el estudio del funcionamiento de los humedales se comprobó que éstos eran capaces de remover, además de contaminantes principales como nitratos, nitritos, fosfatos y materia orgánica, otros tipos de contaminantes tales como metales y compuestos orgánicos, en donde se sabe que las plantas son responsables de la remoción de una fracción de éstos. Sin embargo, la escasa información existente sobre la capacidad de los humedales para “extraer” de la columna de agua la gran gama de contaminantes y los procesos involucrados en tal remoción, ha generado un particular interés en la evaluación de los humedales construidos para determinar su efectividad y conocer los procesos encargados del tratamiento de las aguas residuales.

Con base en lo anterior, el interés de este trabajo es el de evaluar el funcionamiento de un humedal construido a nivel de microcosmos, con el objeto de determinar su efectividad en la remoción de los elementos tóxicos: cadmio, arsénico y cromo. Estos elementos están frecuentemente presentes en aguas residuales en concentraciones por encima de las normas establecidas en México (NOM-001-SEMARNAT-1996, NOM-002-SEMARNAT-1996). En adición, se pretende dilucidar, de manera general, los procesos involucrados en la remoción esperada de dichos contaminantes dentro del humedal.

La selección previa de un humedal de flujo subsuperficial por encima de un sistema de flujo superficial o de plantas acuáticas flotantes, se basa en el hecho de que este sistema cuenta a su favor con ventajas de operación (ej. menor tasa de evaporación) y mantenimiento (ej. menor aparición de algas y contaminación por basura que cae sobre el sistema, una limpieza esporádica de material vegetal inerte) por sobre los dos últimos, además de las ventajas ambientales que ofrece (ej. prevención de aparición de vectores de enfermedades) y porque es el sistema que mejor se amolda en el uso de la *Typha latifolia* como material vegetal principal en la construcción del humedal.

2.2 Objetivo General

Diseñar y evaluar la eficiencia de un humedal de flujo subsuperficial construido con plantas de la especie de *Typha latifolia* para remover elementos tóxicos de soluciones contaminadas con Cd, As y Cr.

2.3 Objetivos Específicos

- Lograr la adaptación y propagación de plantas de la especie *Typha latifolia* en condiciones de invernadero y en diferentes tipos de material granular.
- Determinar las características básicas para el diseño y construcción de un humedal construido de flujo subsuperficial a nivel de microcosmos, con plantas de la especie *Typha latifolia*.
- Definir las condiciones operacionales de flujo, tiempo de residencia del agua y frecuencia de muestreo en el humedal.
- Estimar los principales procesos responsables de la remoción de Cd, As y Cr en un humedal construido de flujo subsuperficial a nivel de microcosmos, con plantas de *Typha latifolia*.

Capítulo 3

METODOLOGÍA

3.1 Selección de las características del sistema de tratamiento tipo humedal

A partir de la revisión bibliográfica y de los estudios previos realizados por el Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Ciencias Químicas, UASLP por Carranza-Álvarez (2005), Alonso-Castro (2005) y Pecina (2008) se tomaron las siguientes decisiones con respecto de la metodología de remoción de metales que se implementó en este trabajo:

- Se eligió el **humedal FASS** ya que el nivel del agua se mantiene por debajo de la superficie del medio poroso, existe un mínimo riesgo de olores, exposición y reproducción de vectores de enfermedades. Se considera que estas condiciones son más favorables para el estudio del proceso de remoción de elementos tóxicos por el humedal, priorizando la fitoacumulación y evitando el desarrollo de condiciones secundarias adversas (desarrollo de algas, evaporación de la solución, etc.) que pudieran afectar la interpretación de resultados.
- Para el humedal se utilizaron plantas del género *Typha*, particularmente de la especie *latifolia*, que en estudios previos ha demostrado tener una buena capacidad para acumular elementos (Cd, Cr, Pb, Fe, Mn, As).
- Aunque en la mayoría de los trabajos previos las plantas fueron expuestas a soluciones simples (Carranza, 2005; Alonso, 2005; Pecina, 2008) y dosis únicas de los contaminantes, el interés del proyecto fue evaluar el desempeño de la planta cuando es sometida continuamente a las mismas concentraciones de elementos para los que demostró ser tolerante (10 a 12 ppm de Cd, 1 ppm de As, 6 a 8 ppm de Cr; Pecina, 2008).
- El soporte de las plantas de *Typha latifolia* se seleccionó de acuerdo a lo recomendado por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA, 1998). Se utilizó material granular disponible en la localidad de tipo grava y piñón. Pruebas preliminares con estos materiales demostraron que constituyen un soporte adecuado para el desarrollo de las plantas.

3.2 Recolección de plantas

Para la realización de este trabajo fue preciso recolectar el material vegetal de un sitio no contaminado por metales. Se recolectaron y analizaron plantas de diferentes sitios y se eligió el Parque Tangamanga I, un parque recreativo de la ciudad de San Luis Potosí, del cual las plantas no presentaron concentraciones significativas de los elementos que se estudiaron en esta tesis.

En la recolecta de las plantas de *Typha latifolia* se eligieron aquellas de un tamaño entre 30 y 90 cm de longitud de la base de las hojas hasta el extremo de la hoja más larga. Se colectaron plantas completas procurando incluir la mayor cantidad de rizomas que se pudieran obtener. La recolección se realizó manualmente tratando de dañar lo menos posible tanto la parte aérea como la parte radicular. Una vez cosechadas, se colocaron en bolsas de plástico para su transporte al Invernadero de la Facultad de Ciencias Químicas (ver Figura 3.1), donde se seleccionaron 2 especímenes de muestra para su identificación taxonómica la cual realizó el taxónomo José García Pérez en el Herbario del Instituto de Zonas Desérticas de la UASLP.

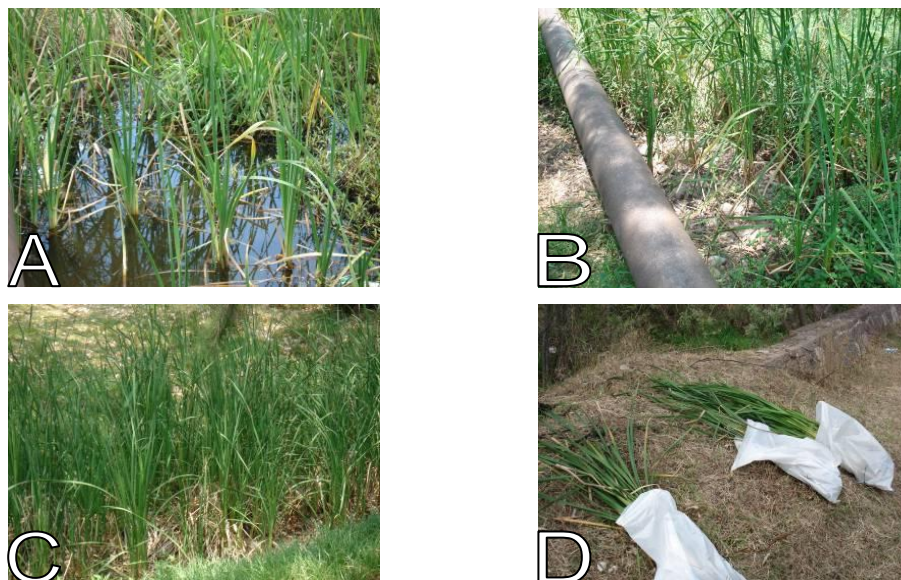


Figura 3.1. Aspectos de los sitios donde se recolectaron las plantas de *Typha latifolia* (A – C) y de la forma de transporte (D) de las plantas al Invernadero de la Facultad de Ciencias Químicas, UASLP.

3.3 Preparación de las plantas de *T. latifolia* para su preservación y desarrollo en el invernadero

En el Invernadero de la Facultad de Ciencias Químicas, las plantas se lavaron de manera individual con agua potable de la red doméstica para remover la tierra acumulada en la raíz. Para su preservación y desarrollo en el invernadero, primeramente las plantas se sembraron (ver Figura 3.2) en un sustrato de tierra comercial (Pro-Mix®), que es una mezcla de turba de *Sphagnum canadiense*; perlita; agente humectante y piedra caliza. Los recipientes se inundaron con agua, no se añadieron nutrientes en forma adicional. Con esto se buscaba simular las condiciones de su hábitat natural (Carranza-Álvarez, 2005; Alonso-Castro, 2005). Cuando se logró promover su crecimiento y reproducción, los brotes de las plantas se propagaron en otros recipientes en las mismas condiciones.

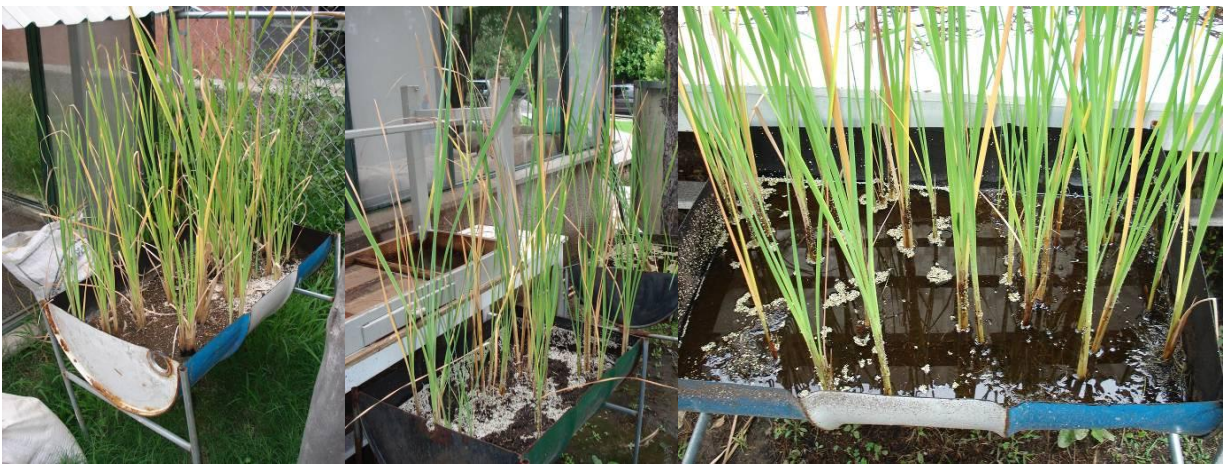


Figura 3.2. Aspectos de la plantación y propagación de *Typha latifolia* en el invernadero en tierra Pro-Mix®.

3.4 Adaptación de las plantas de *Typha latifolia* para su desarrollo en un sustrato granular

Adaptadas las plantas a las condiciones del Invernadero se procedió a acondicionarlas a los sustratos granulares elegidos como material de soporte para el humedal construido. Se colocó cada uno de los tipos de materiales (grava o piñón) en diferentes recipientes. Los materiales se lavaron previamente con abundante agua. En estos recipientes se sembraron varias plantas jóvenes de *T. latifolia*, se agregó agua corriente y se mantuvo el nivel del líquido por debajo del nivel del material de soporte de las plantas para simular las mismas condiciones de un humedal subsuperficial (ver Figura 3.3). En este caso tampoco se adicionaron nutrientes y se monitoreó cada tercer día la aparición de nuevos brotes, el estado de las plantas y el nivel del agua, durante un período de 2 meses.



Figura 3.3. Aspectos de las plantas de *Typha latifolia* sembradas en grava (A) y piñón (B y C).

3.5 Diseño y construcción del humedal

Definido el tipo de humedal (Sección 3.1), se procedió a seleccionar los materiales y las dimensiones necesarias para su construcción. Teniendo como limitantes las propias condiciones del área donde se instalaría el humedal, se procuró guardad la relación (L:A) entre el largo (L) y el ancho (A), la cual debe mantenerse entre 0.5:1 y 5:1, de acuerdo a lo que recomienda la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos para los humedales construidos de tipo subsuperficial (USEPA, 1991). Así, se determinó que las dimensiones del humedal fueran las siguientes: 2 m de largo x 0.50 m de ancho x 0.5 m de altura; (L:A de 4:1).

La estructura en la cual se soportaría el humedal se construyó con láminas de Policarbonato de Alto Impacto, de espesor de 9 mm. El humedal no fue construido sobre el suelo, de forma tal que no fue necesario utilizar membranas impermeables. El Policarbonato se eligió por ser resistente y para que pudiera tolerar el peso del material de soporte de las plantas sin que se fracturase. Adicionalmente, en el taller de herrería de la Facultad (responsable: Juan Carlos González) se le construyó una estructura de acero (ver Figura 3.4) para reforzar la base de Policarbonato y dar la configuración final a la estructura principal del humedal.



Figura 3.4. Aspecto de la estructura de láminas de policarbonato y acero que forman el soporte del humedal.

Previamente a la preparación del humedal, se diseñó e instaló un sistema de puertos de muestreo que serviría más tarde para la colecta de muestras de la solución del humedal durante el período de experimentación. El diseño fue desarrollado por el Dr. Roberto Briones Gallardo del Instituto de Metalurgia (UASLP), y construido por la empresa Ingeniería en Control de Fluidos (responsable: Ing. Javier Morales) y consiste en un sistema de tubería en la cual se soportan los puertos de muestreo para colectar la muestra del humedal de manera longitudinal y axial. El sistema consiste de 6 puertos de muestreo de 50 cm de largo (ver Figura 3.5) unidos a sus respectivas tuberías, que se colocaron a una profundidad media en el humedal. Los puertos de muestreo se colocaron a las siguientes distancias respecto al afluente: 20, 40, 70, 105, 145 y 180 cm.



Figura 3.5. Aspecto de los puertos de muestreo (A) y de la válvula de salida desde donde se colectan las muestras (B).

Una vez que los puertos de muestreo estuvieron fabricados, se terminó de montar la estructura principal del humedal, pegándose las láminas de Policarbonato con cloroformo y sellándose el recipiente para evitar fugas. Se añadieron las tuberías de PVC de $\frac{1}{2}$ pulgada de diámetro para el afluente (Figura 3.6A) y el efluente (Figura 3.6B). Se conectaron 2 válvulas para regular tanto el afluente como el efluente, también de $\frac{1}{2}$ pulgada de diámetro.

Se utilizó un bote de plástico de 60 L para contener la solución que se agregó al humedal y otro de 50 L para recibir el agua tratada (ver Figura 3.7). Al final se instalaron los puertos de muestreo en sus respectivas ubicaciones (ver Figura 3.8).



Figura 3.6. Tuberías para el afluente (A) y para el efluente (B).



Figura 3.7. Recipientes utilizados para la alimentación (recipiente azul) de la solución de contaminantes y para la recepción del efluente tratado (recipiente blanco).



Figura 3.8. Aspecto de los puertos de muestreo instalados en el humedal.

3.6 Adaptación de las plantas de *Typha* al humedal construido

Una vez construido el humedal y elegido el material de soporte, se procedió a sembrar las plantas de *Typha latifolia*. Se utilizaron las plantas que previamente se habían propagado en el invernadero y se propuso un tiempo de adaptación de las plantas en el humedal de 60 a 90 días, previo a la experimentación, con el objetivo de desarrollar la cobertura vegetal. La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA, 1991) recomienda un período de tres meses para lograr una cobertura del 90% antes de utilizar un humedal de *Typha* como sistema de tratamiento. Esta propuesta surge de la observación de humedales con plantas del mismo género según se muestra en la Figura 3.9.

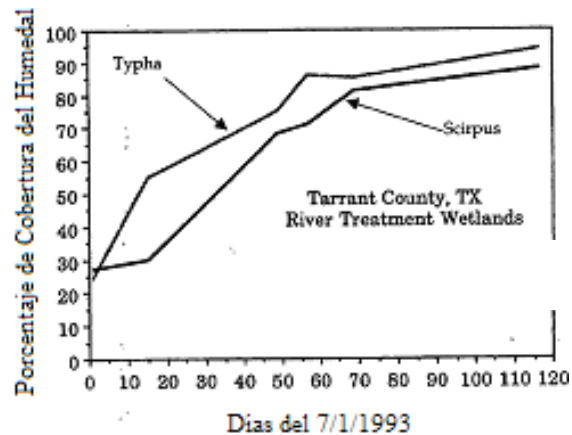


Figura 3.9. Porcentaje de cobertura vegetal de *Typha* y *Scirpus* en un humedal (USEPA, 1991).

Inicialmente en el humedal se sembraron 41 plantas a las que se agregó una solución nutritiva del medio MS®, disolviendo 1.43 g del reactivo comercialmente preparado en 1 L de agua destilada. Esta solución se agregó a los 60 L de agua y se alimentó al humedal. Se monitoreó el crecimiento de las plantas durante 15 días (26 de noviembre al 12 de diciembre de 2007), tomando en cuenta el tamaño desde la base del nivel de grava hasta el extremo de la planta, y contando el número de hojas verdes (de la base a la punta de las hojas) por cada planta. En una segunda etapa (7 de enero del 2008) fueron sembradas 72 nuevas plantas de *Typha* al humedal.

Una vez que se sembraron las plantas y se adicionó la solución de nutrientes al humedal, las paredes (3 lados) fueron pintadas de negro para evitar el desarrollo de algas por efecto de la luz solar. La pared opuesta a la que contenía los puertos de muestreo se cubrió con un plástico negro para facilitar la observación del humedal, el crecimiento de las raíces y el nivel de la solución. Los recipientes conteniendo el afluente y el efluente igualmente se pintaron de negro para evitar el desarrollo de algas que pudieran contribuir a la remoción de metales en el humedal.

3.7 Establecimiento de las condiciones mínimas de operación del humedal

Una vez que se instaló el humedal (ver Figura 3.10), se procedió a determinar las condiciones mínimas de operación. Se marcó el nivel superior del agua, para cuantificar el volumen de tratamiento en el sistema y establecer la altura de la columna de líquido en el humedal la cual se mantuvo durante la experimentación. Enseguida se determinaron los gastos de entrada (A) y salida (B) de la siguiente manera:

- Se calculó primero el gasto de salida, utilizando la ecuación 1.2 descrita en la sección 1.4.4.2, despejando el valor del gasto (Q).
- Posteriormente, utilizando la ecuación 1.1 de la sección 1.4.4.1, se calculó el gasto de entrada hacia el humedal, asumiendo la evapotranspiración y la infiltración nulas; consideradas así porque se decidió ajustar el nivel (altura) de la columna del líquido en el humedal cada tercer día.

El Tiempo de Residencia Hidráulico (TRH) se estableció como 9 días. Así, una vez definidos los gastos, al término de cada TRH se preparaba solución nueva (60 L) de los elementos tóxicos que alimentaban al humedal. Esta solución se utilizaba para restablecer el volumen de solución en el recipiente conteniendo el afluente.

Asimismo, se calculó la frecuencia con la que el recipiente conteniendo el efluente debería ser vaciado. Esto es importante, ya que durante la experimentación el efluente se recicló, añadiéndole al volumen de salida las soluciones de Cd, As y Cr correspondientes para corregir los niveles de concentración en la solución de alimentación al humedal (afluente). La razón por la que se realizó lo anterior fue para no generar un alto volumen de residuos (efluente) que aún contenían concentraciones de Cd, As y Cr. De esta forma se estableció un calendario de suministro de la solución sintética de los metales.

Éstas fueron las condiciones mínimas necesarias para la operación del humedal. Lo anterior es congruente con lo que se espera sea la operación real de un humedal a escala, ya que este tipo de sistemas requiere de pocos parámetros de seguimiento. Estas ventajas son claramente descritas en la literatura (EPA, 1991, 1993, 1999).



Figura 3.10. Vista completa del humedal construido de flujo subsuperficial utilizado en este trabajo.

3.8 Establecimiento de controles de laboratorio para el seguimiento del proceso de remoción de los elementos tóxicos en el humedal

Previo al inicio de experimentación en el humedal se realizaron 4 controles en el laboratorio con el fin de elucidar los probables procesos de remoción involucrados en la remoción total de Cd, As y Cr. Los controles establecidos fueron los siguientes:

- a) Remoción de Cd, As y Cr por el material de soporte de las plantas en el humedal.
- b) Remoción (sorción) de Cd, As y Cr por las raíces de *Typha latifolia*.
- c) Aporte de Cd, As y Cr por el material de soporte de las plantas (control de contaminación).
- d) Determinación de la concentración basal de Cd, As y Cr en las plantas recolectadas y utilizadas para la plantación del humedal.

Se utilizaron 4 recipientes de plástico de 34x23x16 cm, a los que previamente se les realizó un lavado con ácido nítrico al 15% y se enjuagaron suficientemente con agua destilada. Se procedió a la preparación de los controles como sigue:

- a) Control de remoción de Cd, As y Cr por el material de soporte de las plantas (ver Figura 3.11A): en el primer recipiente se colocaron 3.9 Kg del material de soporte seleccionado para el humedal (porosidad aproximada de 40%) y se cubrió con una solución (3.3 L) de 9,6 mg/L de Cd (masa total 31.8 mg), 1.1 mg/L de As (masa total 3.63 mg) y 6.5 mg/L de Cr (masa total 21.5 mg). En la preparación de las soluciones se emplearon sales de nitrato de cadmio ($\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$), meta-arsenito de sodio (NaAsO_2) y dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), todos ellos grado reactivo (ACS).
- b) Control de remoción de Cd, As y Cr por las raíces de las plantas (ver Figuras 3.11B y 3.11C): en un segundo recipiente se colocaron 10 raíces de *Typha latifolia* con un peso total de 70.6 g y se cubrieron también con una solución de las mismas características que el control anterior.

- c) Control de contaminación del material de soporte (ver Figura 3.11D): en un tercer recipiente se colocaron 2.5 Kg del material de soporte (grava) y se le agregó 2 L de agua desionizada.
- d) Control de concentración basal de Cd, As y Cr en las plantas (ver Figura 3.11E): en el cuarto recipiente se colocaron 6 plantas de *Typha latifolia* seleccionadas aleatoriamente de las plantas que se recolectaron en campo para la siembra en el humedal, se agregaron 3 Kg de material de soporte y 2.5 L de agua desionizada.

Cada uno de los recipientes fue cubierto con plástico para evitar cualquier tipo de contaminación y se procedió a la toma de muestras de la solución al inicio de los experimentos con estos controles, y después cada 48 h hasta un total de 12 días. Se colectaron alícuotas de 20 mL de la solución y se preservaron añadiendo 20µL de HNO₃ grado ambiental (Anachemia) hasta su análisis. Para los controles a) y b) el tiempo de experimentación se extendió 6 días más. Para ello se procedió a hacer una segunda adición de la solución con las siguientes concentraciones: 4.5 mg/L (masa total 14.3 mg) de Cd, 0,5 mg/L (masa total 1.6 mg) de As y 3.1 mg/L (masa total 9.7 mg) de Cr. Igualmente, una vez añadida la solución, se colectaron alícuotas posterior a la adición de la solución y cada 48 h.

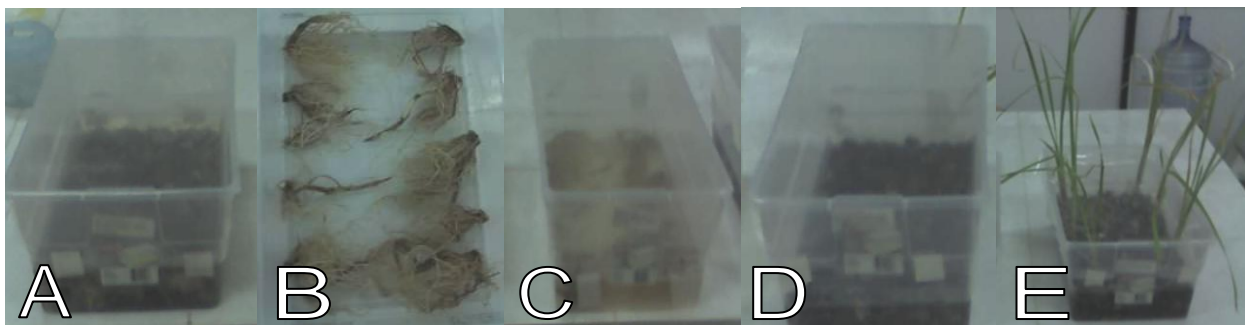


Figura 3.11. Aspecto de los controles de laboratorio para el seguimiento del proceso de remoción de los elementos tóxicos en el humedal: (A) Control de remoción de Cd, As y Cr por el material de soporte de las plantas, (B y C) Control de remoción de Cd, As y Cr por las raíces de las plantas, (D) Control de contaminación del material de soporte y (E) Control de concentración basal de Cd, As y Cr en las plantas.

3.8.1 Determinación de la concentración de cadmio, arsénico y cromo en las muestras de los controles en laboratorio y cálculo de los porcentajes de remoción

La cuantificación de Cd y Cr se hizo por Espectrofotometría de Absorción Atómica en Flama (EAAF; Varian SpectrAA 220FS) y para el arsénico por Espectrofotometría de Absorción Atómica en Horno de Grafito (EEAHG; Varian SpectrAA 220Z con horno GTA 110Z). Los porcentajes removidos Cd, As y Cr de la solución para los controles (a) y (b) se calcularon como sigue:

$$\% M_{rem} = \left(100 - \left(\frac{M_i * 100}{M_0} \right) \right) \quad (3.1)$$

Donde:

$\% M_{rem}$, es el porcentaje del elemento removido de la solución,

M_0 : es la cantidad de masa total del elemento (mg) que se añadió al control la cual se obtuvo, multiplicando la concentración del elemento en la solución que se añadió al control (C_0 , mg/L) por el volumen añadido (V, L).

M_i : es la cantidad de masa total del elemento removida al tiempo (t_i). Se obtuvo por la diferencia entre M_0 y la masa cuantificada al tiempo t_i en la solución de cada uno de los controles.

3.8.2 Determinación de la concentración basal de cadmio, arsénico y cromo en las plantas de *Typha latifolia* recolectadas para la construcción del humedal

Para la determinación de la concentración basal de los elementos a estudiar, se realizó una digestión ácida en las 6 plantas de *Typha latifolia* del último control. Para ello se retiraron con cuidado las plantas del recipiente, se enjuagaron con agua desionizada y se secaron a temperatura ambiente. Después, se dividió cada planta en 3 partes (raíz, 0-10 cm y >10 cm de tallo), se colocaron en recipientes limpios de plástico y se secaron por liofilización. Una vez secas, las muestras se pesaron y se molieron (Molino: Analytica Mill). Se pesaron 50 mg de cada una de las muestras secas y se colocaron en viales de 5 mL a los que se les agregó 2.5 mL de HNO₃ concentrado, se taparon y se protegieron de la luz y las muestras se digirieron en ese medio ácido durante 5 días.

Una vez finalizado este período, se agregó 1 mL de H₂O₂ al 30%, al recipiente donde se encontraba la muestra con el ácido. Se volvieron a tapar y a proteger de la luz por 24 h más. Al término del periodo de digestión se aforó la muestra a 25 mL con agua desionizada. Se cuantificaron las concentraciones en la muestra digerida mediante Espectrofotometría de Absorción Atómica de Flama (Cd y Cr) (EAAF; Varian SpectrAA 220FS), y por horno de grafito (As) (EEAHG; Varian SpectrAA 220Z con horno GTA 110Z).

3.9 Preparación del material para la colecta y análisis de muestras

Todo el material de plástico (PP o HDPE) o vidrio utilizado en la colecta de muestras de la solución del humedal, así como para la preparación de muestras de plantas, se lavó con HNO₃ al 15% durante 24 h y se enjuagó abundantemente con agua desionizada. Esto se hizo para eliminar cualquier posible contaminación que pudieran proveer dichos recipientes. También se realizó el mismo lavado a los viales (PP, 5 mL) que se utilizaron para hacer diluciones de las muestras para su análisis, y a las puntas de pipeta. El material se secó y se preservó al abrigo del polvo hasta su uso.

3.10 Procedimiento de operación del humedal

Preparación de la solución afluyente del humedal. Una vez que se obtuvo el desarrollo de una cobertura vegetal en el humedal lograda en 45 días, se alimentó con la solución de metales y As. Para ello, se prepararon 60 L de una solución de 10, 1 y 5 mg/L de Cd, As y Cr, respectivamente. En la preparación se utilizaron 1.645 g de Cd(NO₃)₂, 0.104 g de NaAsO₂ (*meta*-arsenito de sodio) y 0.849 g de K₂Cr₂O₇, los cuales se disolvieron en agua desionizada.

Además de los metales y As, se añadieron a la solución, nitrato de potasio (KNO_3) y fosfato ácido de amonio ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) para alcanzar una concentración de 14.5 y 0,65 mg/L de potasio y de fósforo, respectivamente. Esta solución corresponde al afluente que se alimentó continuamente en el humedal durante la experimentación. El interés de añadir nutrientes (una fuente de K y N, y una de P) fue el favorecer el desarrollo de las plantas durante la experimentación. Se establecieron estas concentraciones de nutrientes debido a que se pretendió mantener niveles cercanos a los provistos por el medio nutritivo MS® en la fase de adaptación de las plantas.

Parámetros de seguimiento del desarrollo de las plantas en el humedal. La experimentación en el humedal se inició el 21 de febrero del 2008 (día 0), día en que se alimentó la solución de metales y As a un flujo de 6.5 mL/min. Previamente se contaron las plantas de *Typha latifolia* (junto con sus brotes) y se tomaron algunas otras mediciones como se describe enseguida:

- a) Las plantas se contaron y etiquetaron asignándoles a cada una un número
- b) Se realizó un esquema para documentar la distribución espacial de las plantas en el humedal
- c) Se midió la altura de cada una de las plantas previamente etiquetadas, desde el nivel del material de soporte hasta la hoja verde más larga de las plantas y se elaboró un registro
- d) Se contó el número de hojas verdes de cada planta y se levantó un registro de esta información.

Estas mediciones se hicieron con una periodicidad de 15 días con el fin de llevar un registro de alteraciones en el aspecto de las plantas en el humedal por efecto de los metales y del arsénico. Las mediciones se realizaron en las siguientes fechas: 7 y 21 de marzo, 5 y 20 de abril, 6 y 21 de mayo de 2008 para cubrir un tiempo total de experimentación de 90 días.

Adicionalmente a los parámetros anteriores, se realizó un seguimiento del nivel de clorofila, tal y como lo realizaron Manios y col. (2003), ya que su producción es un indicativo del estado de salud de las plantas (crecimiento y producción de biomasa) en el sistema, de tal forma que su monitoreo puede ser usado como un parámetro de advertencia temprana de los efectos tóxicos de la acumulación de metales en las plantas.

Los pigmentos fotosintéticos varían en su abundancia de acuerdo a cada especie. En el caso de la clorofila *a* (Chl *a*), ésta se encuentra en todos los organismos que realizan fotosíntesis oxigénica, mientras que otros tipos de clorofila (clorofila *b*, clorofila *c*, clorofila *d*), sólo se encuentran en ciertos tipos de plantas (Streit, *et al*, 2005).

Para las mediciones de este parámetro se seleccionaron aleatoriamente 11 plantas del humedal a las que se les determinó clorofila en sus hojas (principalmente clorofila *a*), valores que utilizamos para conocer el impacto de los elementos tóxicos en la salud de las plantas. Para esto, se obtuvieron fragmentos de hojas de 10 cm de las plantas de *Typha* con una periodicidad de 15 días. La fracción de tejido vegetal correspondió a la parte central de las hojas que mantenían al momento de su recolección, en su aspecto, una coloración verde. El material vegetal se mantuvo a -20° C y protegido de la luz hasta la realización del análisis.

Colecta de muestras de la solución del humedal. A continuación se procedió a alimentar el humedal con la solución afluyente, como se indicó anteriormente a un flujo constante de 6.5 mL/min. Inmediatamente después de que se inició esta operación, se colectaron las primeras muestras a través de los puertos de muestreo del humedal (ver sección 3.8 donde se indica la ubicación de los puertos). Para la toma de muestras se utilizaron recipientes de plástico de 100 mL, los cuales contenían 5 µL de HNO₃ concentrado (grado ambiental; Anachemia) para preservar los elementos en solución.

Se colectaron 50 mL de muestra del afluente, de cada uno de los 6 puertos de muestreo y del efluente. Este primer grupo de muestra permitió determinar las concentraciones iniciales de Cd, Cr y As en la solución del humedal. Las muestras fueron de 50 mL cada una y se tomaron del afluente, los 6 puertos de muestreo y el efluente, en el orden de derecha a izquierda según la figura 24. Asimismo, se tomó el pH de manera independiente en cada uno de los puertos de muestreo, del afluente y el efluente. Las muestras se colectaron con una periodicidad de cada tercer día haciendo un total de 31 días de monitoreo (total: 248 muestras de la solución) durante el período de experimentación de 90 días (21 de febrero al 21 de mayo del 2008).

La solución afluente se abasteció al recipiente correspondiente con una periodicidad de cada 9 días. La primera adición fue el 1º de Marzo preparando las soluciones de metales y As en agua desionizada. En las fechas posteriores se reutilizó el efluente tratado (60 L), al cual se le determinó la concentración de Cd, As y Cr totales y se rectificó su concentración añadiendo las cantidades necesarias de $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$, NaAsO_2 y $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, sin rectificar el pH a un nivel preestablecido, para alcanzar las concentraciones de Cd, As y Cr del afluente (10, 1 y 5 mg/L respectivamente).

Al día 48 de la experimentación se confinó el agua tratada por el humedal, para agregar una solución recientemente preparada de Cd(II), Cr(VI) y As (III), a las concentraciones que se indicaron antes para el humedal. En las alimentaciones posteriores de afluente se reutilizó el efluente tratado reconstituido con las concentraciones requeridas de Cd, As y Cr, y de igual manera se le añadieron las concentraciones de N, P y K descritas previamente en esta sección, para mantener la dosis de nutrientes para las plantas.

3.10.1 Determinación de la concentración de cadmio, arsénico y cromo en las muestras recolectadas de la solución en el humedal

La determinación de las concentraciones de los metales y de As en las muestras de solución recolectadas del humedal (N = 248) se realizaron por Espectrofotometría de Absorción Atómica en Flama para el cadmio y cromo (EAAF; Varian SpectrAA 220FS), y por Espectrofotometría de Absorción Atómica con Horno de Grafito para el arsénico (EEAHG; Varian SpectrAA 220Z con horno GTA 110Z). Los análisis fueron realizados por la LQ. Marissa Dávila Santos en el Laboratorio de Elementos Traza de la Facultad de Ciencias Químicas (UASLP).

3.10.2 Cuantificación de la clorofila en las muestras de plantas del humedal

Las muestras recolectadas del material vegetal fresco, se pesaron y se trituraron en un mortero adicionando alícuotas de 2 mL de acetona al 80% v/v a fin de extraer el total de la clorofila, procurando no emplear más de 10 mL de acetona. Durante este procedimiento, el mortero se mantuvo en baño de hielo para evitar la evaporación del solvente. El extracto obtenido se filtró empleando una bomba de vacío y papel filtro (Whatman), se aforó a 10 mL con acetona al 80% v/v y finalmente se midió la absorbancia (A) del extracto mediante Espectrofotometría UV-Visible a 645, 652 y 663nm (Thermo SCIENTIFIC GENESYS 10UV).

Para obtener la cantidad de clorofila total por gramo de muestra fresca se emplearon las siguientes ecuaciones:

$$\text{Clorofila total (mg/L)} = 27.8 * A_{652\text{nm}} \quad (3.3)$$

$$\text{mg clorofila} = [\text{Vol. Aforo (L)}] * [\text{clorofila total (mg/L)}] / 1\text{L} \quad (3.4)$$

$$\text{mg clorofila/g muestra} = [\text{clorofila (mg)}] * [\text{muestra (1 g)}] / [\text{muestra fresca (g)}] \quad (3.5)$$

3.10.3 Cuantificación de Cd, As y Cr adsorbido y acumulados por las plantas

Para corroborar el proceso de remoción de los elementos tóxicos de la columna de agua atribuible a la acción de las plantas de *Typha* en el humedal (rizofiltración y fitoextracción), una vez finalizado el período de experimentación se seleccionaron 12 plantas del humedal que estuvieran cercanas a los puertos de muestreo (2 plantas por cada uno). Para determinar las concentraciones de metales y As adsorbidos en la raíz y/o acumulados por el tejido (raíz y tallo). Para fines de este trabajo se considerará la adsorción como la capacidad para unir o ligar los elementos tóxicos mediante enlaces químicos a diferentes compuestos o materiales de la superficie celular y a la acumulación, como la capacidad de las células vegetales de internalizar a los tejidos los elementos tóxicos.

Se determinó la fracción de metales y arsénico adsorbidos a la raíz y acumulados en la raíz y en los primeros de 10 cm de tallo (incluyendo las hojas; ver Figura 3.12).

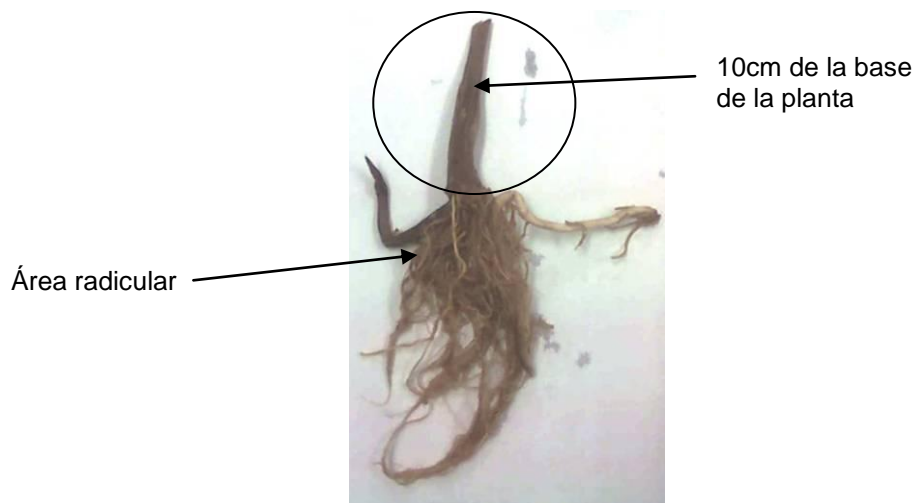


Figura 3.12. Aspecto de la raíz y del seccionamiento (tallo+raíz) de las plantas del humedal para la cuantificación de metales y As adsorbidos y acumulados por la planta.

Posteriormente y con el objetivo de eliminar los metales y As adsorbidos, las raíces y tallos (+hojas), las plantas se colocaron en recipientes individuales que contenían una solución de 100 mL de HNO₃ 0.1 N durante 3 h con agitación constante. Al término de este período, se retiró el material vegetal de los recipientes, se enjuagó con agua desionizada y se secó a temperatura ambiente. Las muestras de las plantas se congelaron y posteriormente fueron liofilizadas. La solución de HNO₃ se analizó para determinar las concentraciones de Cd, As y Cr desorbidas de las plantas. Una vez liofilizado el material vegetal, se procedió a realizar una digestión ácida como la descrita en la sección 3.8.2, para luego cuantificar los elementos estudiados. Como se indicó antes, la cuantificación de Cd, Cr y As se realizó por Espectrofotometría de Absorción Atómica y estuvo bajo la responsabilidad de la LQ. Marissa Dávila Santos.

3.11 Determinación del efecto de las plantas de *Typha* en el pH de la solución

Con el objeto de conocer si las plantas de *Typha latifolia* tienen algún efecto sobre el pH de la solución en la que se encuentran, se procedió a realizar el siguiente experimento:

- a) En vasos de precipitados se prepararon cinco réplicas de: a) solución control que contenían solución diluida de HNO₃ o NaOH para ajustar el pH de cada recipiente a 2, 4, 6, 8 10, y, b) una solución conteniendo una planta por réplica. Las plantas que se utilizaron fueron seleccionadas del conjunto restante de plantas empleadas en el establecimiento de la cobertura vegetal del humedal (ver Figura 3.13). A cada una de las réplicas se les ajustó a un pH igual al control, agregando solución diluida de HNO₃ o NaOH. Los volúmenes utilizados fueron de 300 mL.
- b) Durante 10 días se registró diariamente el pH de las soluciones en los 10 vasos, con un medidor portátil de pH (Conductronic).
- c) Se tomaron fotos para registrar los cambios de apariencia en las plantas durante el experimento (Figura 3.13).



Figura 3.13. Aspecto de las plantas de *Typha latifolia* durante la experimentación.

3.12. Efecto del material de soporte (grava y piñón) sobre el pH y la concentración de cadmio en la solución

Para corroborar el efecto del material de soporte en la adsorción de Cd de la solución y determinar su influencia en el proceso de remoción de este elemento en el humedal, se realizó el siguiente experimento:

- a) Se utilizaron 12 vasos de precipitados de 500 mL y se estableció una configuración de 3 réplicas para 4 variables (control, grava, piñón y mezcla 50-50 grava/piñón) (Figura 3.14).

Primera variable: En los recipientes correspondientes al control, se prepararon 300 mL de una solución de Cd(II) de 30 mg/L preparada utilizando la sal de $[\text{Cd}(\text{NO}_3)_2]$. El pH de esta solución se ajustó a 3.

Segunda variable: En los recipientes de grava, se pesaron y agregaron 100 g del material y se le añadió 300 mL de solución de Cd(II) a cada recipiente.

Tercera variable: En los recipientes de piñón, se pesaron y agregaron 100 g del material y se le añadió 300 mL de solución de Cd(II) a cada recipiente.

Cuarta variable: En los recipientes de la mezcla, se pesaron y agregaron 50 g de grava y 50 g de piñón, y se le añadió 300 mL de solución de Cd(II).

Se tomaron muestras diariamente de la solución de cada uno de los recipientes, registrándose diariamente la variación del pH y la concentración de Cd.



Figura 3.14. Esquema del experimento del efecto del material de soporte sobre el pH y la concentración de cadmio en la solución.

Capítulo 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Recolección de las plantas de *Typha*

Durante el período de investigación se realizaron 4 recolecciones de plantas en el Parque Tangamanga I: 10 de febrero, 24 de marzo y 8 de septiembre del 2007; 12 de enero del 2008. En la recolección se observaron dos especies de *Typha* (*latifolia* y *domingensis*), sin embargo, debido a que se recolectaron plantas pequeñas no fue posible diferenciar las especies que se utilizaron en el humedal. De acuerdo a lo que se indica en la sección 3.2, es necesario identificar las especies a partir de su floración (ver Figura 4.1) y ninguna de las plantas de *Typha* que se recolectaron o que se adaptaron en el invernadero la presentaba de tal forma que no se pudieron diferenciar las especies.



Figura 4.1. Inflorescencia de *Typha domingensis* y *Typha latifolia*. (IFAS, 1990)

4.2 Adaptación de las plantas de *Typha* en el invernadero

Las plantas recolectadas tuvieron una tasa de desarrollo adecuada en los medios de propagación adaptados en el Invernadero de la Facultad de Ciencias Químicas. Esto permitió contar con un abastecimiento de plantas suficiente para las distintas etapas de experimentación, tanto en laboratorio como en el humedal construido. La metodología de propagación fue implementada en estudios previos por Carranza (2005), Alonso (2005) y Pecina (2008). Sin embargo, tras un período de desarrollo de varias semanas se observó que las plantas de *Typha latifolia* presentaban un crecimiento limitado, sin que se pudiera definir una causa de dicho efecto, aunque de acuerdo con Grace (1989) es también importante la profundidad del nivel del agua en dichos recipientes, ya que esta condición influye en el tamaño de las plantas de *Typha* (*latifolia* y *domingensis*).

4.3 Adaptación de las plantas de *Typha* al sustrato granular

Las plantas de *Typha latifolia* demostraron ser capaces de desarrollarse exitosamente en los materiales granulares (grava y piñón; ver Figura 4.2) que se probaron. Se eligió finalmente la grava como material de soporte para el humedal debido a su facilidad de obtención, ya que es un material que comúnmente se utiliza en la construcción. Este es también un material recomendado en los Manuales de Construcción de Humedales para el Tratamiento de Agua de la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos, organismo que tiene una amplia experiencia en la utilización de este tipo de sistemas de tratamiento (USEPA, 1993, 1998 y 1999).

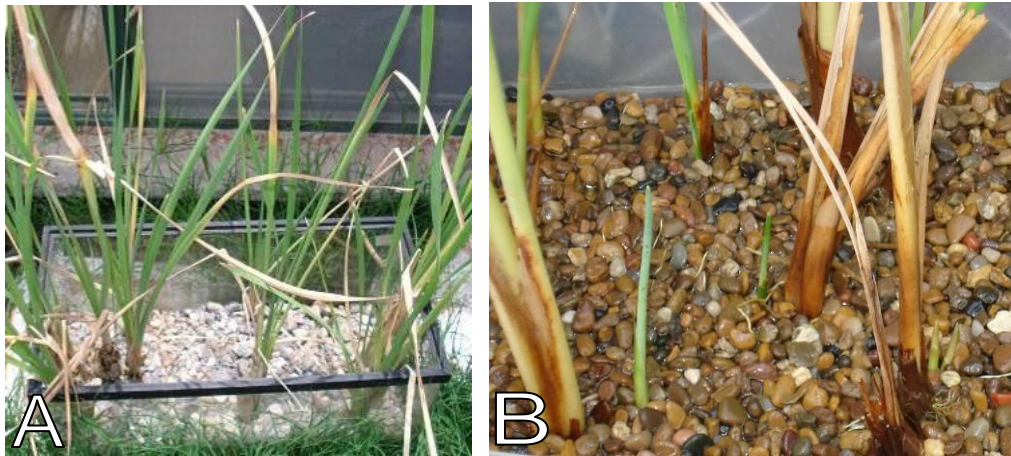


Figura 4.2. Aspecto del desarrollo de las plantas de *T. latifolia* en grava (A) y en piñón (B).

4.4 Consideraciones en el diseño y construcción del humedal

El humedal fue construido conforme a lo descrito en la metodología (sección 3.5) a un costado del Invernadero de la Facultad de Ciencias Químicas. El área fue acondicionada con un techo de lona para proteger el humedal y el abastecimiento de plantas de la lluvia. Por facilidad para la observación del humedal durante la experimentación, éste se colocó sobre una mesa. Durante la experimentación no se observó la aparición de plagas y los requerimientos de mantenimiento del humedal fueron mínimos.

El humedal se construyó de acuerdo al esquema que se presenta en la Figura 4.3A. Se utilizaron láminas de Policarbonato de Alto Impacto que se pegaron utilizando productos a base de cloroformo y silicón. Dada la cantidad de material de soporte y plantas que se colocaron en el humedal, fue necesario construir un refuerzo de material de herrería para dar solidez al material plástico que se utilizó para su construcción. El procedimiento de implementación del humedal fue sencillo, pero se recomienda en trabajos futuros adicionar unas placas metálicas de manera transversal y longitudinal en la base, para aumentar el refuerzo (Figura 4.3B).

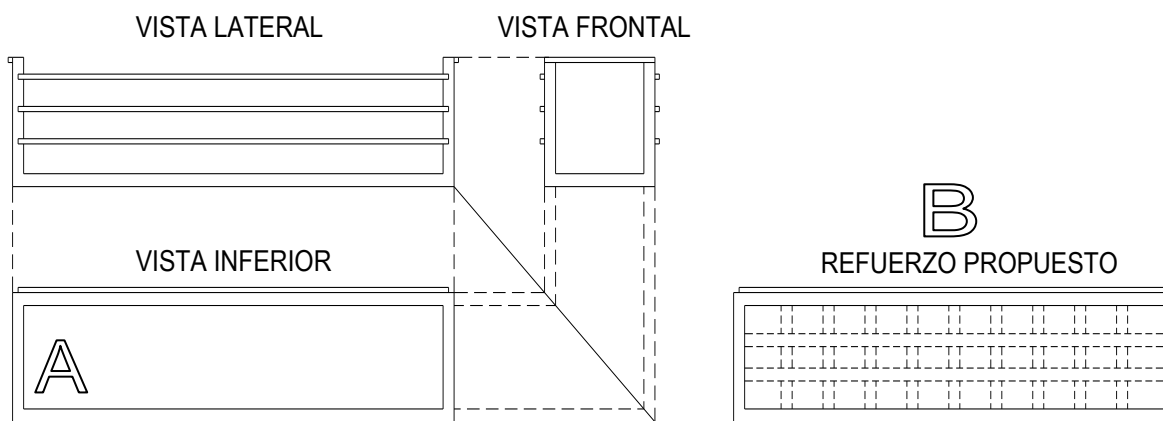


Figura 4.3. Aspectos de las vistas lateral, frontal e inferior del armazón de metal elaborado para la construcción del humedal (A) y del refuerzo propuesto para la parte inferior del armazón (B).

Los puertos de muestreo resultaron ser muy efectivos en esta investigación, dado su diseño y facilidad de uso. Sin embargo, aunque no se detectaron problemas precisos, el material de construcción de los puertos es esencialmente acero inoxidable y con el tiempo es posible que presente daños debido a la acidez del medio, provocando que se contaminen las muestras.

4.5 Adaptación de las plantas de *Typha* al humedal construido

Se colocó una columna de material de soporte de grava y piñón (1:1) en el recipiente construido del humedal. Enseguida, con mucho cuidado, en el material de soporte se colocaron las plantas (N = 41) que previamente se desarrollaron en Tierra Pro-mix® y se lavaron con abundante agua hasta retirar por completo de sus raíces la tierra que se encontraba impregnada. En la Tabla 4.1 se indican las características de estas primeras plantas con las que se construyó el humedal.

Tabla 4.1. Características de las plantas de *Typha latifolia* utilizadas en la construcción del humedal en Septiembre del 2007. Entre paréntesis se indica si la planta medida inicialmente se repite en las mediciones posteriores.

Parámetro	Valores iniciales	Tiempo (días)			
		3 ¹	9	12	15
Número de plantas	41	41	40	38	36
Altura (menor; cm)	10.5(a)	15.5(a)	24.5(b)	26.5(b)	30.5(b)
Altura (mayor; cm)	114(c)	115(d)	122(d)	124.5(d)	130(e)
Altura (promedio; cm)	63.5	67	75	80.6	85.7
Número promedio de hojas/planta	4.6	4.8	4.8	5.1	5.5

1: Durante los primeros 3 días de adaptación no se añadió solución nutritiva al humedal, ésta se realizó a partir del cuarto día.

La adición de la solución nutritiva (Medio MS® comercial) fue importante para el aumento en la tasa de crecimiento de las plantas ya que favoreció el crecimiento de las mismas en un promedio de 0.7 cm/día. Se observó un aumento del tamaño de las plantas (altura; Tabla 4.1) con la adición de nutrientes (~19 cm logrados en 9 días), asimismo se presentó desarrollo de raíz (ver Figura 4.4).



Figura 4.4. Aspecto del crecimiento de la raíz de *T. latifolia* en el humedal posterior a la adición de nutrientes.

Por causas ajenas al proyecto, el humedal se debió cambiar de lugar (Diciembre, 2007) lo cual fracturó la estructura y fue necesario repararla y replantar el humedal. Tomando como base las condiciones que permitieron el desarrollo de las plantas en óptimas condiciones, se reconstruyó el humedal con plantas que se trajeron directamente de un sitio no contaminado con metales (Parque Tangamanga I). En esta ocasión, las plantas fueron etiquetadas (ver Figura 4.5), asignándoles un número el cual se utilizó para dar seguimiento a su desarrollo durante la experimentación. En este caso, solamente se consideró un mes y medio para el desarrollo de la cobertura vegetal en el humedal. Se tomaron las medidas de altura de las plantas conforme a lo descrito en la metodología (sección 3.10); los resultados de las características de las plantas antes de la adición de los elementos tóxicos se presentan en la Tabla 4.2.

Tabla 4.2. Características de las plantas de *Typha latifolia* utilizadas en el humedal construido en Enero del 2008. Entre paréntesis se indica el número de planta al que corresponde el valor del parámetro.

Parámetro	Antes de la adición de elementos tóxicos
Número de plantas	72
Altura (menor; cm)	16.5 (#70)
Altura (mayor; cm)	125.5 (#4)
Altura promedio (cm)	70
Número promedio de hojas/planta	5.3



Figura 4.5. Vista de las plantas de *T. latifolia* (A) con sus respectivas etiquetas y de su distribución espacial (B) en el humedal construido en Enero del 2008.

4.6 Condiciones de operación del humedal

Las condiciones mínimas de operación del humedal durante la experimentación fueron las siguientes: el nivel de la solución se mantuvo a 15 cm a partir de la base del humedal, lo que dió un volumen libre de 200 L; sin embargo, tomando en cuenta la porosidad ($\epsilon = 40\%$) del material de soporte, obtenida en laboratorio con una muestra del material de soporte utilizado en el humedal, el volumen medido durante el tratamiento dentro del humedal fue de 60 L. Conforme a lo planteado teóricamente en la sección 3.7 de la metodología para el cálculo de los gastos de entrada (Q_i) y de salida (Q_o) se estableció de inicio un TRH de 6 días en base a valores recomendados en la literatura para humedales construidos (USEPA, 1993, 1998, 1999; Álvarez y Bécares, 2006). Así se obtuvo que para la operación del humedal, los valores teóricos deberían ser de 6.9 mL/min tanto para Q_i como para Q_o .

En base a lo anterior, los gastos de entrada y salida se ajustaron al valor indicado en la medida de lo posible. El diámetro de las válvulas de entrada y salida que se instalaron en el humedal fue de $\frac{1}{2}$ " de tal forma que ésta medida resultó no ser la adecuada para los flujos que se debían controlar en el humedal, principalmente porque las válvulas no contaban con el diseño y la precisión (Ver Figura 4.6A y B) necesarias para ajustar del gasto. Para futuros estudios, y dependiendo del flujo a utilizar, se recomiendan válvulas de globo para regular los gastos (ver Figura 4.6C).

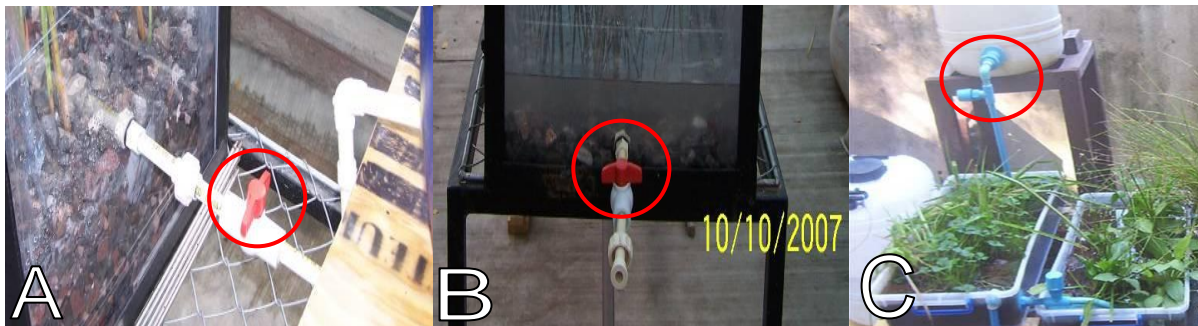


Figura 4.6. Vistas de las válvulas para regulación de los flujos del afluente (A) y del efluente (B) en el humedal construido. Ejemplo de válvulas de regulación de flujo en otros estudios con humedales (C; www.aquis.cl/images/humedales02.jpg).

Ante esta dificultad, se procedió a ajustar manualmente las válvulas para encontrar un gasto que pudiera acercarse al calculado teóricamente, según la sección 1.4.4.2. La determinación del gasto de salida se consiguió utilizando una probeta graduada de 50 mL para medir volumen por unidad de tiempo que fluye por estas válvulas. Se establecieron flujos estables de 4.6 mL/min (Q_i , Q_o), lo que permitió un mayor tiempo de residencia de la solución (TRH = 9 días) en el humedal, valor que se encuentra en los promedios recomendados en la literatura. Estas condiciones se consideraron muy convenientes para la operación del humedal, debido a que nos exigió la preparación de menores volúmenes de soluciones durante el tiempo de experimentación. El control y medición de los gastos se optimizó durante el período de desarrollo de la cobertura vegetal previa a la adición de la solución con elementos tóxicos. De esta forma fue necesario preparar la solución del afluente solamente cada 9 días y recircular la solución del efluente que aún contenía concentraciones medibles de Cd, As o Cr de tal forma que la generación de residuos fuera mínima. Para futuros experimentos es importante considerar utilizar válvulas de mayor precisión y medidores de flujo para el control de los gastos tanto de entrada como de salida.

4.7 Remoción de Cd, As y Cr por el material utilizado para el soporte de las plantas

El material de soporte o los sedimentos formados durante la operación de un humedal tienen una capacidad importante de retención de los elementos traza principalmente por estar formados de silicatos y materia orgánica entre otros constituyentes. En este trabajo se determinó la capacidad de la grava en la remoción de Cd, As y Cr de la solución. Las pruebas se realizaron como se indicó en la sección 3.8. Los resultados se muestran en las figuras 4.7 y 4.8 e indican que el Cd tiene una fuerte afinidad por el material de soporte, de tal manera que la concentración del metal disminuye en más del 80% en la solución en los dos primeros días de la prueba. En el caso de Cr y As, las respectivas concentraciones disminuyen en 40% y 50% y se alcanzan en los primeros cuatro días de la prueba.

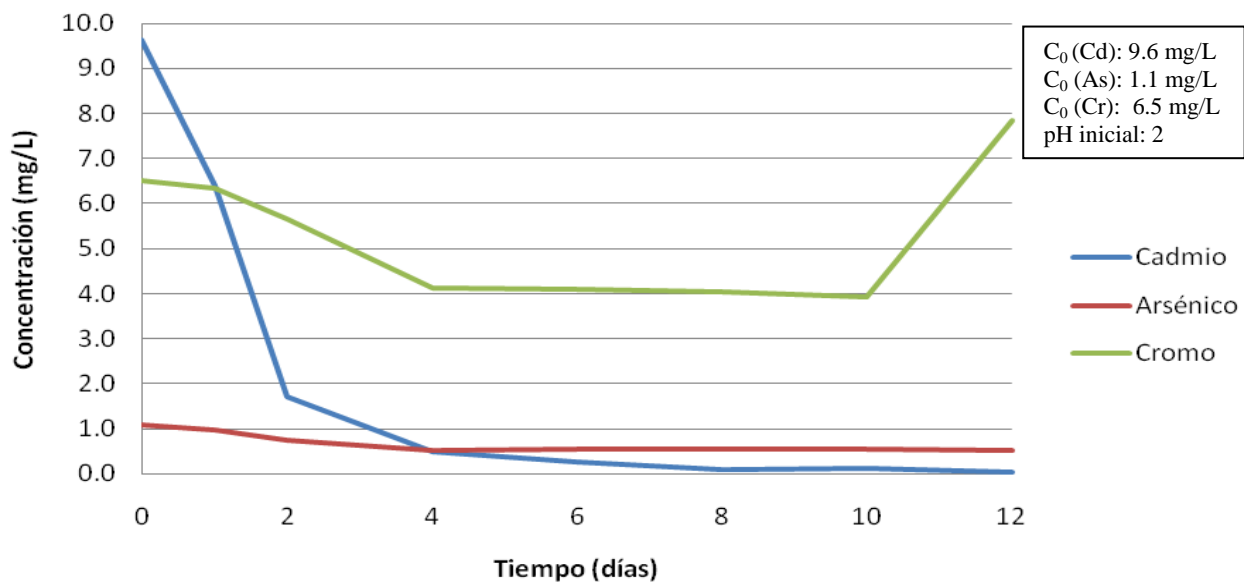


Figura 4.7 Variación de la concentración de Cd, As y Cr con el tiempo por efecto de la remoción de los elementos por la grava.

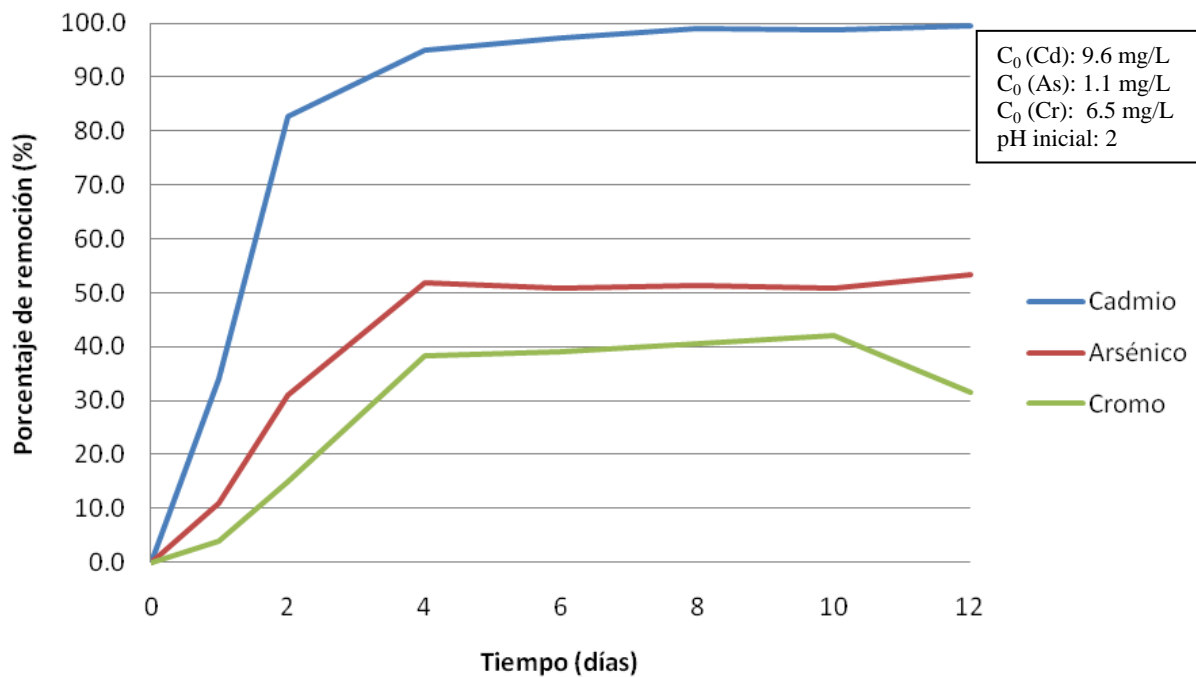


Figura 4.8 Porcentajes de remoción de Cd, As y Cr de la solución con el tiempo por efecto del material de soporte utilizado para las plantas.

En la Figura 4.7 se muestra que la concentración de Cd disminuyó de 9.6 mg/L a 1.7 mg/L en 2 días, equivalente a un porcentaje de remoción de 82.6% de la masa del elemento y alcanzó una remoción de 99.6% en 12 días (Figura 4.8). Lo anterior permite afirmar una alta capacidad de la grava para remover este elemento.

Por el contrario, en el caso de Cr aunque la concentración igualmente disminuyó (de 6.5 ppm a 5.6 ppm en 2 días), la remoción fue únicamente de 14.9% a 2 días y de 42.2% a 10 días de iniciada la prueba. En la última medición del cromo (día 12), el crecimiento abrupto de la concentración puede atribuirse a una contaminación en la toma de muestra para su posterior cuantificación. En el caso del arsénico, a los 2 días su concentración disminuyó de 1.1 ppm a 0.8 ppm (31% de porcentaje de remoción de la masa del elemento); a 12 días de la prueba la remoción fue de 53.4%. Lo anterior indica que el material de soporte es capaz de remover los elementos tóxicos que se probaron en este trabajo en el orden de Cd>As>Cr (Figura 4.8). Esta capacidad de la grava es probablemente dependiente del pH, sin embargo, en estas pruebas, en particular, no se midió este parámetro diariamente. Estos ensayos no se realizaron con el piñón ya que se asumió que el efecto del mismo no sería representativo en el humedal, por presentarse en una menor cantidad con relación a la grava.

De la misma manera que la grava, se determinó la capacidad de remoción de Cd, As y Cr por raíces de *Typha latifolia*. El procedimiento experimental se indicó en la sección 3.8.1. Los resultados respecto al papel de las raíces de *Typha latifolia* en la remoción de los elementos tóxicos estudiados se muestran en las Figuras 4.9 y 4.10.

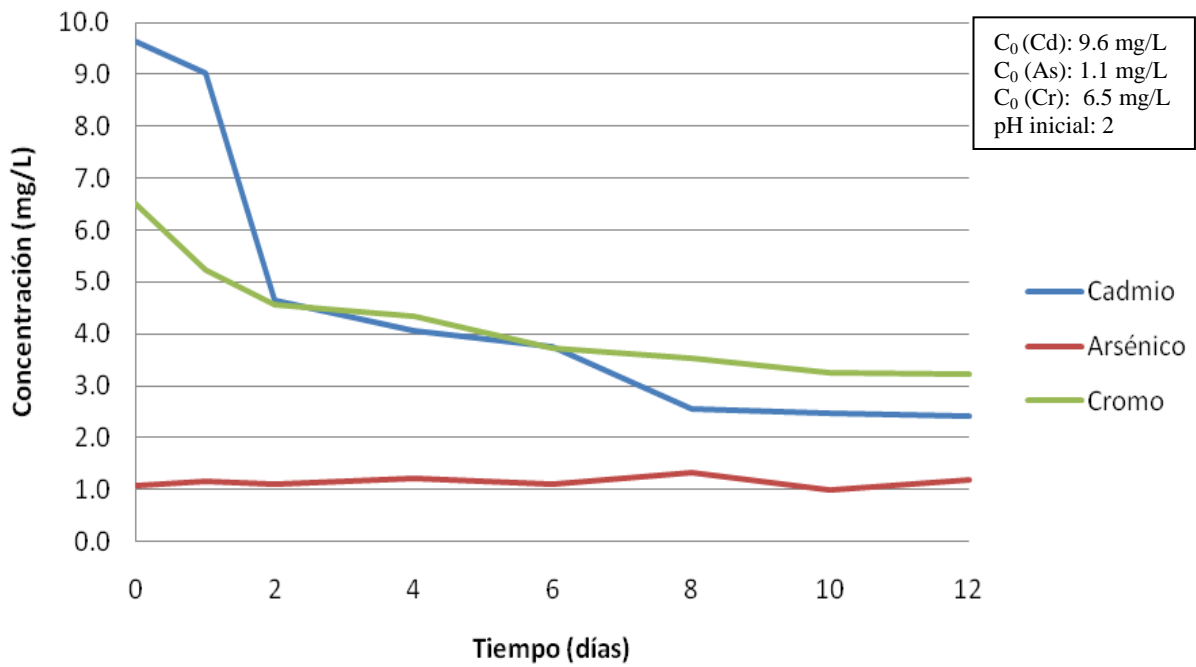


Figura 4.9 Variación de la concentración de Cd, As y Cr con el tiempo por efecto de la remoción de los elementos por raíces de *T. latifolia*.

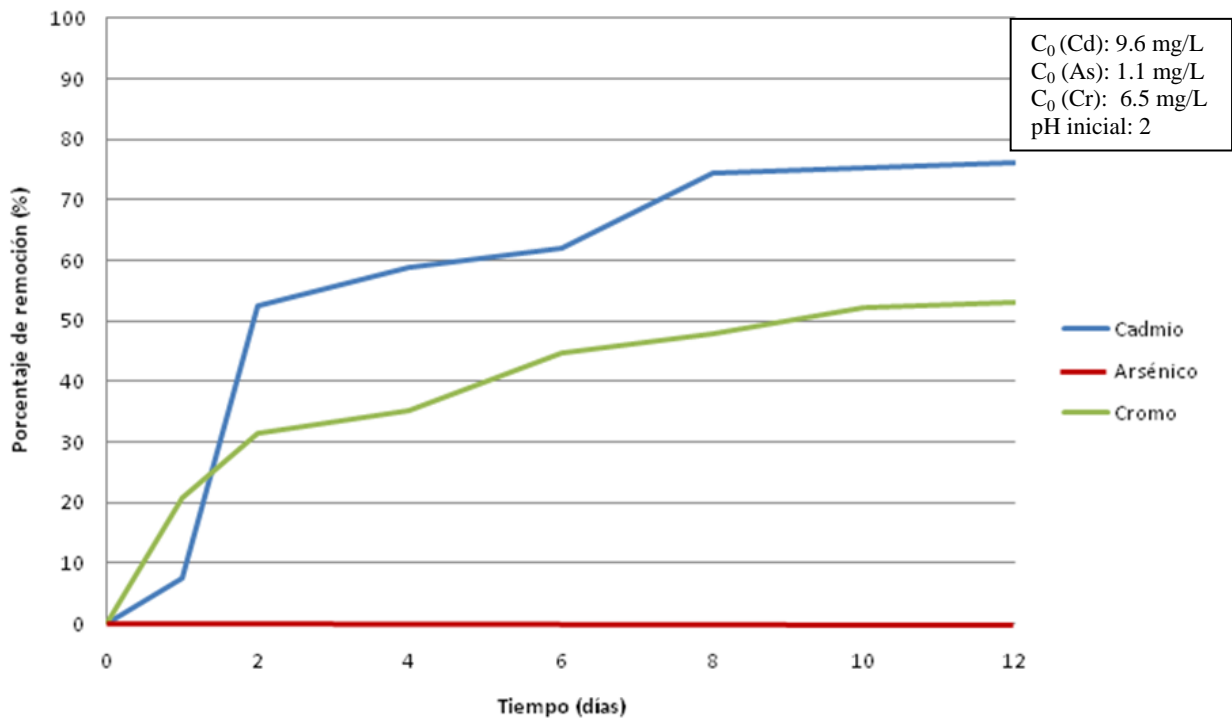


Figura 4.10 Porcentajes de remoción de Cd, As y Cr de la solución con el tiempo por efecto de las raíces de *T. latifolia*.

En lo que respecta a las raíces de *Typha latifolia*, éstas presentan un efecto menor en la remoción de Cd, As y Cr de la solución que la grava. Así, la concentración de Cd disminuyó de 9.6 ppm a 4.7 ppm en 2 días (52.6%); a los 12 días de la prueba la remoción fue de 76.2% de la masa añadida del elemento. La remoción de As no fue significativa, por lo cual no se presenta en la Figura 4.10. Por su parte, en el caso del cromo, la concentración en la solución disminuyó de 6.5 ppm a 3.2 ppm (53.1%) durante los 12 días de duración de la prueba. La anterior información es muy importante, ya que nos indica que tanto el material de soporte como las raíces de la planta tienen un papel importante en la remoción de Cd y Cr de la solución mientras que As es removido únicamente por la grava. En este caso, es probable que la remoción por parte de las raíces de *Typha* se deba a la capacidad de adsorción y acumulación de los metales a las mismas, aunque se necesitarían estudios más específicos para corroborar este señalamiento (Carranza, 2005; Alonso, 2005; Pecina, 2008; Leura, 2009).

Seguramente durante la experimentación con el humedal, el material de soporte puede presentar una gran influencia en la capacidad total de remoción. Con esta prueba se demostró que la grava remueve los elementos que se estudiaron en el orden $Cr < As \lll Cd$. Los mecanismos responsables de la remoción por sustratos inorgánicos, tales como la grava, pueden ser intercambio iónico, adsorción/desorción, precipitación/disolución o formación de complejos (Rieuwerts, *et al*, 1998; Silveira, *et al*, 2003; Basta, 2004). En el caso de la raíz de *Typha* los resultados arrojaron un efecto importante en la remoción del cadmio y el cromo, atribuibles a la capacidad para adsorción y acumulación de la plantas (Ye, 1997; Carranza, 2005; Alonso, 2005; Xu y Jaffé, 2006; Pecina, 2008). Cabe destacar que las raíces de *Typha* poseen una gran tolerancia y adaptación a las aguas contaminadas, inclusive con elementos tóxicos, como fue el caso en este experimento, ya que una evidencia importante fue la aparición de una planta en el período de experimentación con los controles, así como atisbos en el crecimiento de nuevos brotes en las raíces (ver Figuras 4.11 A, B y C).

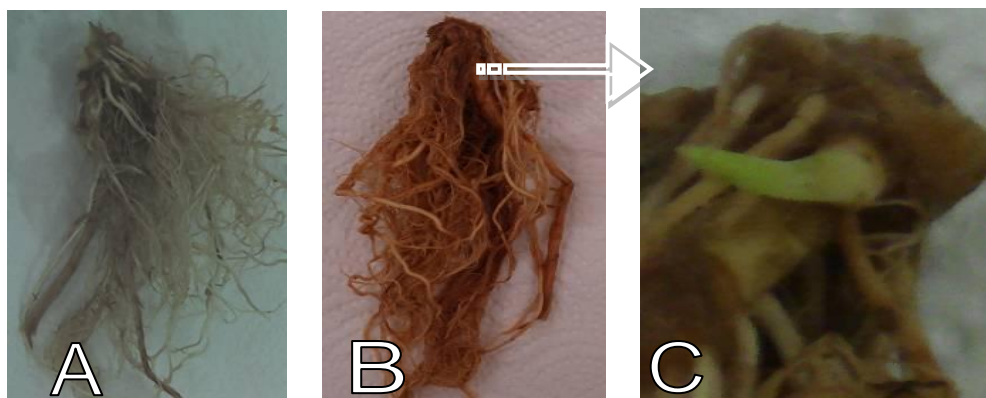


Figura 4.11. Aspecto de las raíces de una planta: (A) antes de su exposición a la solución de Cd, As y Cr, (B) al finalizar la prueba, y (C) un acercamiento de la aparición de un brote durante el período de exposición de la planta a la solución contaminada.

Igualmente se preparó una prueba de control para detectar posible contaminación que pudiera ser ocasionada por la grava. Los resultados indicaron que el material que se colocó en agua desionizada no aportó ninguno de los elementos tóxicos que se estudiaron en este trabajo.

Por último, tras los análisis realizados al material vegetal para determinar la concentración de Cd, As y Cr que contenía la planta previamente a la experimentación (nivel basal de los elementos tóxicos), se concluye que las plantas que se utilizaron para la construcción del humedal no presentaron contaminación por Cd, As o Cr.

4.8 Remoción de Cd, Cr y As por el humedal construido

Una vez establecidas las condiciones mínimas de operación del humedal y después de un mes y medio de plantación para el desarrollo de la cobertura vegetal, se inició la experimentación (Febrero, 2008) mediante la adición de una solución de Cd(II), As(III) y Cr(VI) a un flujo de 4.6 mL/min. Las concentraciones que se determinaron en la solución afluyente en el inicio de la experimentación con los elementos tóxicos fueron: 6.6 mg Cd/L, 0.9 mg As/L y 5.2 mg Cr/L.

El pH inicial no se controló en la solución afluente y debido a que para su preparación se utilizaron soluciones de metales en HNO_3 , el pH inicial resultante fue de 2.13. La solución del afluente se preparó directamente en el recipiente que alimentó el humedal y aunque se añadió una cantidad de Cd para obtener una concentración inicial de 10 mg/L, la concentración medida fue menor, por lo que es muy posible que el recipiente haya adsorbido parte del metal. Este comportamiento no se observó con los otros dos elementos. Las concentraciones de Cd, As y Cr que se determinaron en el primer día de experimentación en cada uno de los puertos de muestreo y en el efluente no fueron significativas. El pH promedio en el humedal fue de 7.39 y en el afluente el registro fue de 7.55 (ver Figura 4.12) durante la experimentación. Es importante notar que el pH ácido afectó esencialmente las secciones más cercanas al punto de alimentación del afluente. Más adelante se demostraría que la grava actuó al mismo tiempo como un buffer, neutralizando el pH ácido.

En los días 0, 9, 48 y 57 se agregaron soluciones recientemente preparadas de Cd, As y Cr en agua desionizada (sección 3.10), mientras que en los días restantes se recicló el efluente reconstituido con la concentración requerida de los elementos tóxicos, así como de los nutrientes requeridos. Continuamente se verificó el nivel de agua en el humedal y aunque la pérdida de volumen no fue significativa, no se llevó un registro de pérdida.

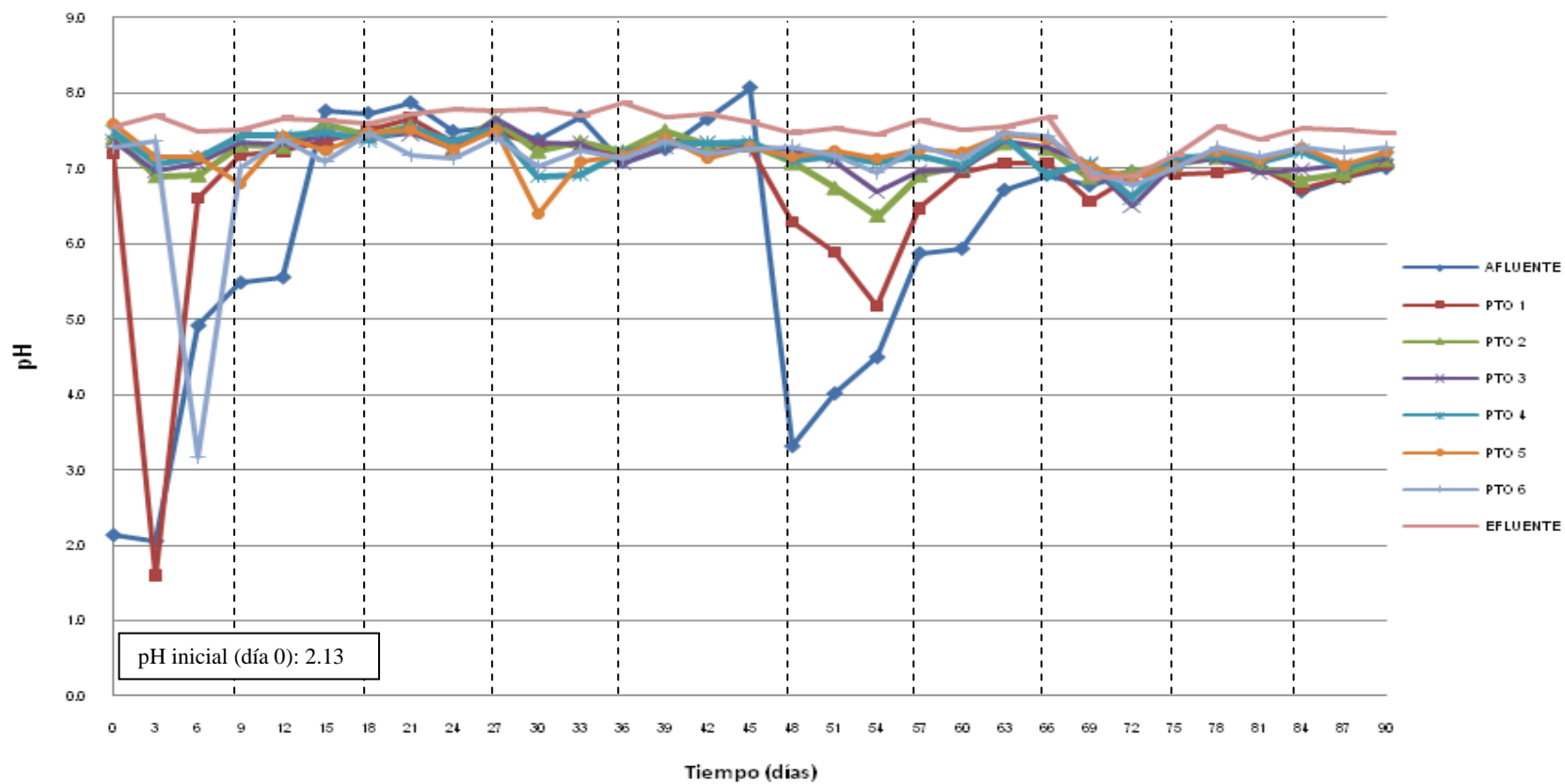


Figura 4.12. Variación del pH durante la experimentación en el afluente, los seis puertos de muestreo y en el efluente del humedal. Las líneas verticales indican los días en que se realizó alimentación de solución de metales y As al humedal.

Registro de pH durante la remoción de metales. En el inicio de la experimentación el pH de la solución afluente no se controló a un valor determinado y aunque no era deseable el pH ácido (ver Figura 4.12) que se detectó, éste fue útil como marcador del flujo a través del humedal, observando la progresión del pH a través de los distintos puertos en cada tercer día. El período más evidente de este fenómeno se suscitó entre los días 0 al 18. El pH ácido mantuvo en solución los elementos que se probaron y es probable que a causa de este evento la planta haya acumulado concentraciones importantes de Cd. Sin embargo, este evento no se documentó suficientemente, aunque se observó que en el humedal la acidez fue controlada tan sólo en los primeros 18 días de experimentación.

Después del período de acidez, en el humedal el pH se incrementó a valores entre 7 y 8. Nuevamente en el día 48 de experimentación el pH disminuyó a valores entre 6.5 y 7.5 y permaneció en este rango hasta el día 90 en que se terminó la experimentación. Como se explicará más adelante, las variaciones del pH y de la concentración de Cd disuelto en el humedal (ver Figura 4.13), nos llevó a plantear un par de experimentos para demostrar que el material de soporte granular tenía una gran injerencia en la capacidad de remoción de este elemento en el humedal, por sobre el factor vegetal.

Patrón del comportamiento de cadmio en el humedal. En la Figura 4.13 se observa el patrón de comportamiento del cadmio en el humedal, determinando que la variación de la concentración en el afluente se mantuvo entre 6 mg/L y 8 mg/L. Se observaron dos concentraciones máximas en los días 33 y 51 de la experimentación. Las concentraciones correspondientes a los puertos 1 a 6 mostraron un orden decreciente de concentración que varió inversamente con su posición con respecto a la alimentación del afluente. Así, en el puerto 6 y el efluente durante la experimentación no se detectó concentración alguna de cadmio.

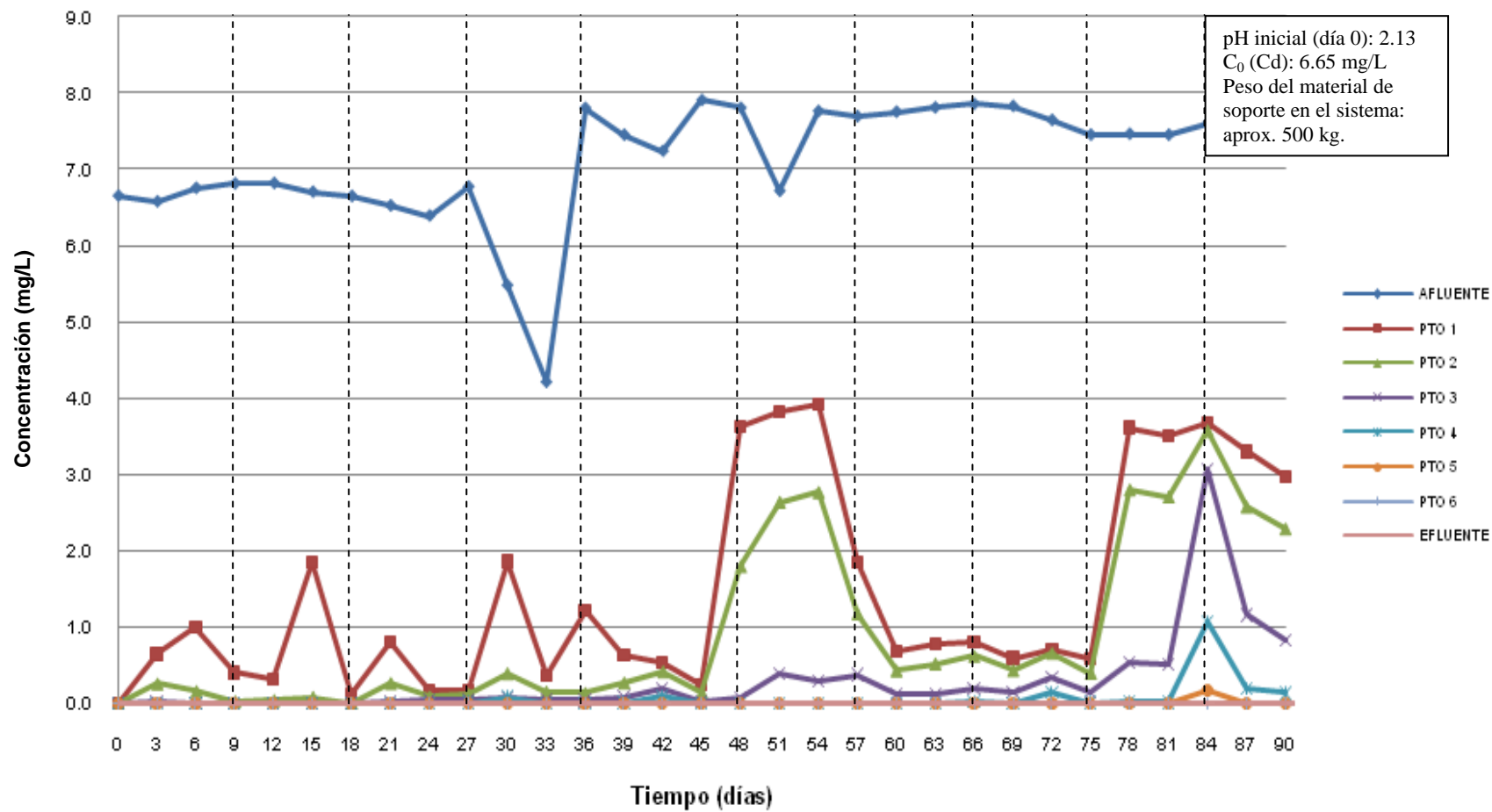


Figura 4.13. Variación de la concentración de cadmio total disuelto durante el período de experimentación en el afluente, los seis puertos de muestreo y en el efluente del humedal. Las líneas verticales indican los días en que se realizó alimentación de solución de metales y As al humedal.

Las concentraciones observadas en el período comprendido entre los días 48 al 51, corresponden a los bajos niveles de pH (entre 3 y 7) detectados en el mismo período de tiempo en el puerto 1 de muestreo. Esto supone una posible correlación entre los niveles de pH y la concentración del cadmio en la columna de agua, lo cual es normal ya que en general los metales se mantienen en soluciones ácidas. Sin embargo, este mismo comportamiento no puede ser explicado de la misma forma cuando se observa un incremento de concentración en el puerto 1 a pH entre 6.5 y 7.5 en el período de los días 78 a 90. La única explicación posible es que la capacidad de adsorción de la grava en este primer puerto disminuyó. Lo anterior obligó a buscar algunas respuestas que se intentaron alcanzar realizando pruebas adicionales para estimar: a) las causas que afectan la variación del pH en el humedal, y b) la capacidad de adsorción de Cd por el material de soporte.

Para responder a la primera pregunta se planteó la hipótesis de que las plantas de *Typha latifolia* pueden regular los niveles de pH dentro del humedal activando su bomba de iones H^+ para regular el medio iónico a su alrededor; lo anterior le permite también captar nutrientes o los elementos que le son esenciales en condiciones adversas de pH o sustancias tóxicas (Kalin, 2004; Kuschik, *et al*, 2006). Para estimar el papel de las plantas en el control del pH se realizó el experimento descrito en la sección 3.11 de la Metodología. Los resultados de este experimento se presentan en la Figura 4.14.

El pH de la solución en los recipientes de control permaneció sin cambios significativos durante los 10 días de duración de la prueba. Por el contrario, la gráfica muestra que en presencia de plantas de *Typha latifolia*, el pH varía desde el primer día de la prueba. Es interesante notar que las plantas (N= 1 por recipiente) tienen un efecto en el control del pH de tal manera que lo regulan desde el pH de la solución hasta un valor cercano a la neutralidad (6.4). Lo anterior se produjo probablemente como consecuencia del intercambio iónico entre la raíz y la solución para establecer un equilibrio iónico (referencia pendiente).

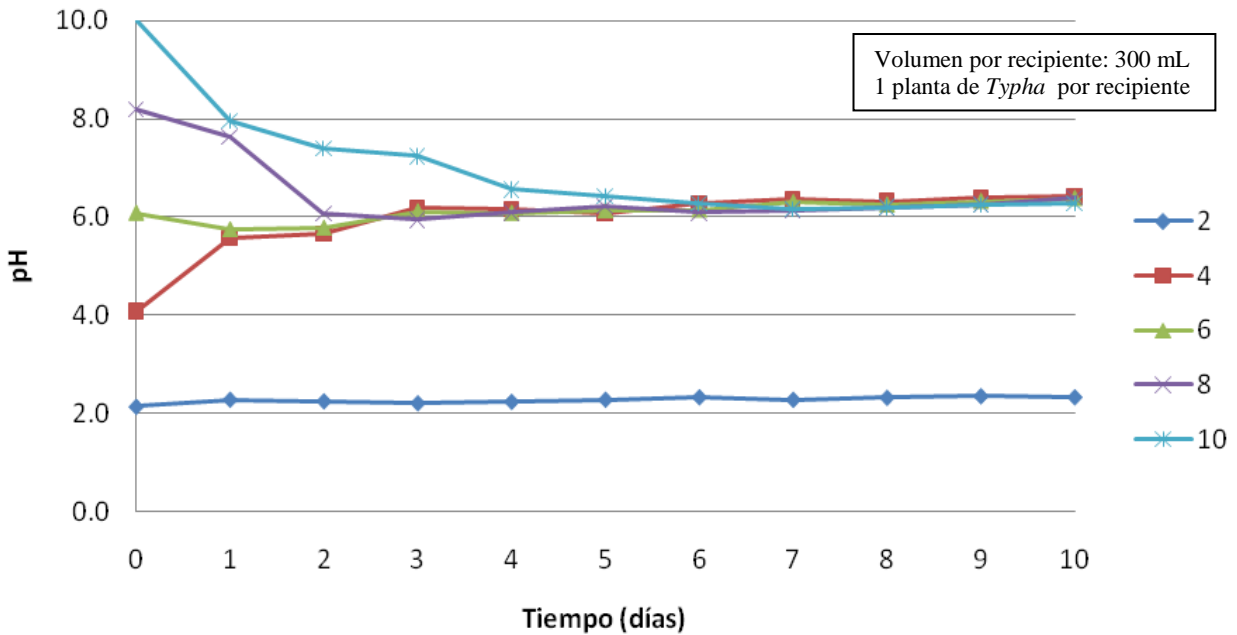


Figura 4.14. Variaciones del pH de la solución con respecto del tiempo en pruebas realizadas en presencia de plantas de *Typha latifolia*.

De acuerdo con Prasad (2003) y Pilon-Smits (2005), las plantas también podrían regular el pH del ambiente acuático en que se desarrollan a través de la segregación de metabolitos propios de las plantas que actúan como una defensa natural. Esta suposición no fue posible comprobarla, aunque sería muy recomendable estudiar más a fondo estos resultados obtenidos a través de pruebas de lote en laboratorio, en donde se someta a las plantas de *Typha* a un estrés por pH, para después tratar de identificar la secreción de enzimas, proteínas u otros compuestos específicos que puedan ser los causantes de la modificación del pH observado en la solución (Pilon-Smits, 2005).

La planta no fue capaz de regular el pH y este se mantuvo relativamente constante a pH 2 a lo largo de los 10 días del experimento. Estos resultados son de suma importancia ya que nos permiten establecer un rango de pH (4 – 10) en el cual las plantas de *Typha* pueden sobrevivir, y otro rango en el que el pH afecta notablemente su desarrollo (pH < 4).

Los resultados anteriores son interesantes y nos permiten explicar el comportamiento observado en el humedal. Como se mencionó previamente, el pH del humedal que inicialmente fue ácido (del día 0 al 15) debido a que el afluente tenía un pH menor a 3, aumentó a valores entre 7 y 8 (del día 18 al 45), lo cual se podría atribuir a un efecto amortiguador de la grava como se explicará más adelante, y finalmente disminuyó a valores entre 6.5 y 7.5 (del día 48 al día 90), probablemente debido al efecto de las plantas en el control del pH (ver Figura 4.14). El nivel del pH obtenido en el laboratorio (6.4) no concuerda exactamente con los niveles de pH a los que se mantenía el humedal (6.5-7.5) lo cual sugiere un efecto combinado del material de soporte y de las plantas en el control del pH de la solución. Sin embargo, en este proceso de control del pH las plantas están sometidas a un fuerte estrés sobre todo cuando se trata de valores mayores a 8 o menores a 5, condiciones en las cuales tampoco es posible que puedan captar los nutrientes en forma eficiente (ver Figura 4.15). *Typha latifolia* toma eficientemente sus nutrientes de la solución a pH entre 5 y 6.

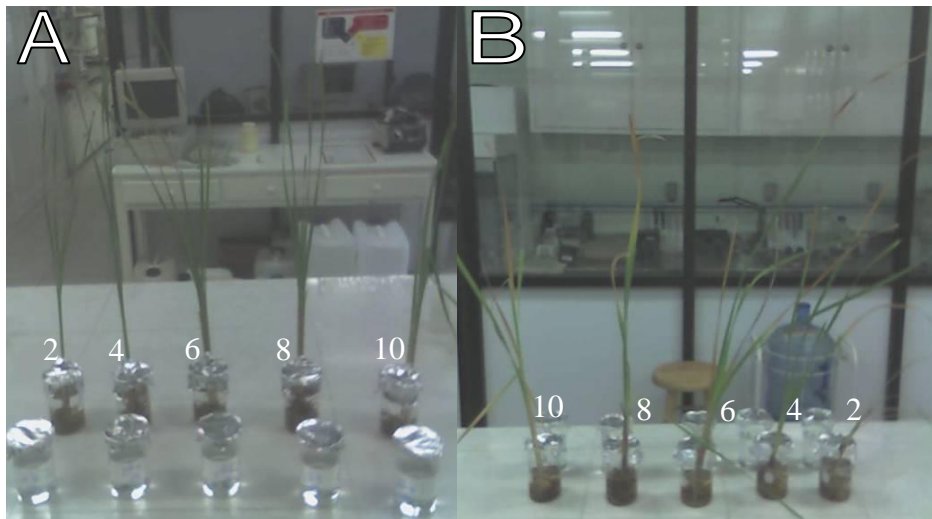


Figura 4.15. Aspecto de las plantas sometidas a diferentes condiciones de pH al inicio de la prueba (A) y al final de 10 días de experimentación (B).

Se investigó de igual manera el papel del material de soporte (grava + piñón, relación 1:1 p:p) en el control del pH de la solución en el humedal de acuerdo con la metodología propuesta en la sección 3.12, con el cual pretendíamos comprobar la

capacidad del material de soporte para remover Cd de la solución. Simultáneamente fueron medidos tanto la concentración del cadmio como el pH en la solución, para comprobar si pudiera existir alguna relación entre estos dos factores, ya que la movilidad del elemento puede verse modificada por una interacción entre distintos procesos tales como intercambio catiónico, adsorción/desorción, precipitación/disolución y formación de complejos, todos éstos a su vez afectados por los niveles de pH existentes, el potencial redox, la textura, tipo y contenido de arcillas y la materia orgánica presente (Rieuwerts, *et al*, 1998; Reichman, 2002; Silveira, *et al*, 2003; Basta, 2004). Los resultados que se obtuvieron fueron bastante interesantes debido a que el comportamiento presentado durante estos experimentos se asemeja al mostrado en el humedal (Figuras 4.12 y 4.13) para los mismos parámetros, tal y como se observa en las Figuras 4.16 y 4.17, en donde se puede apreciar la variación de la concentración de Cd en la solución así como el pH por efecto del material de soporte (grava y piñón).

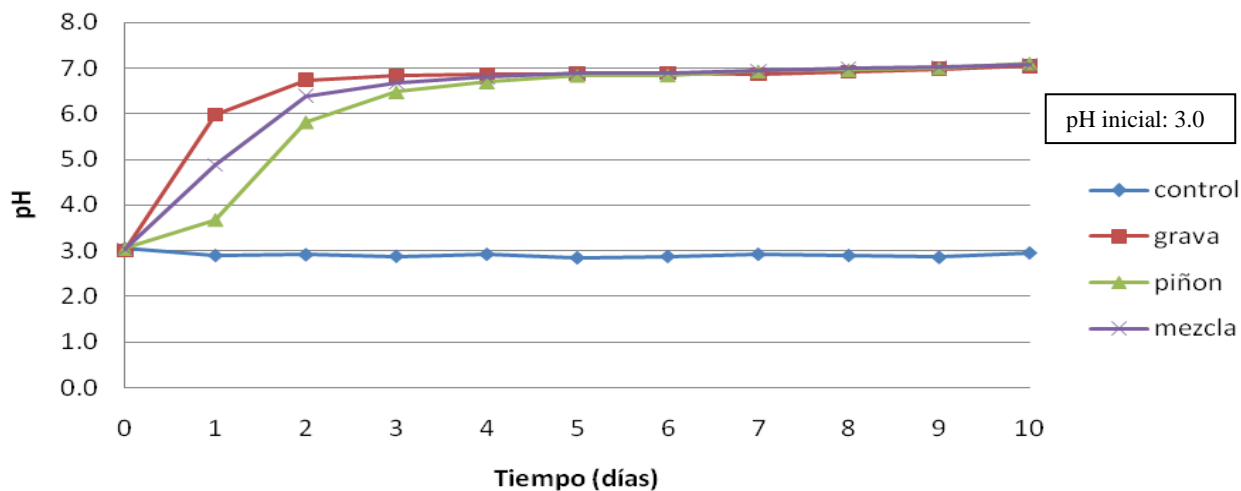


Figura 4.16. Variación del pH con el tiempo en una solución de Cd conteniendo 100 g de material de soporte (grava y piñón) en un volumen de 300 mL. La relación de grava-piñón fue de 50:50 g en un volumen de 300 mL. El control consistió de un volumen de 300 mL de la solución de Cd (II) sin ningún material de soporte.

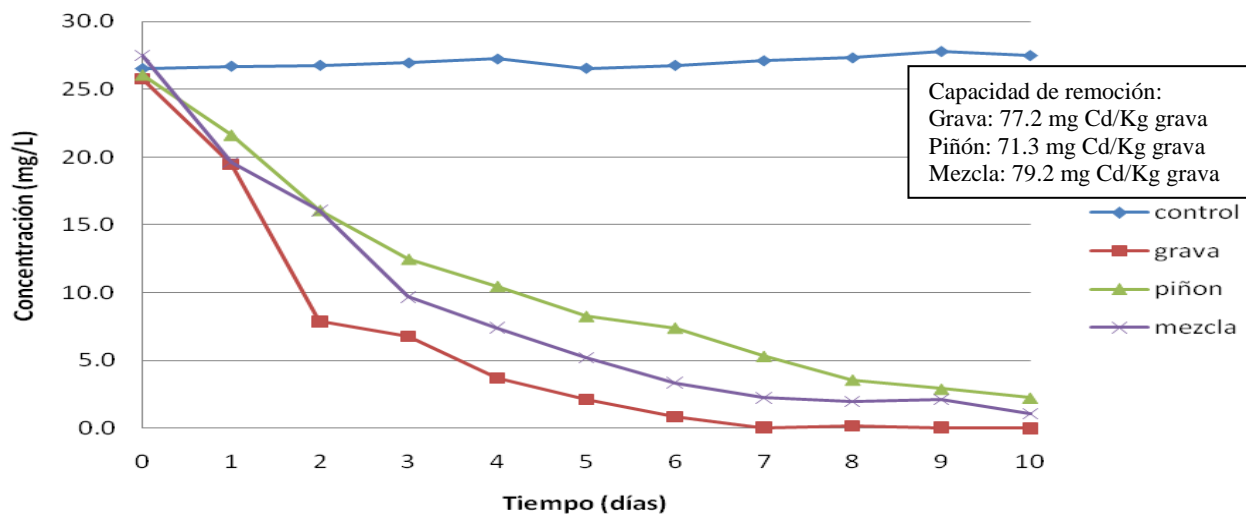


Figura 4.17. Variación de la concentración de Cd (II) con el tiempo en una solución conteniendo 100 g de material de soporte (grava y piñón) en un volumen de 300 mL. La relación de grava-piñón fue de 50-50 g en un volumen de 300 mL. El control consistió de un volumen de 300 mL de la solución de Cd (II) sin ningún material de soporte.

Estos resultados sirvieron de apoyo a la interpretación de la variación del pH en la solución del humedal y podrían explicar los valores cercanos a 8 que se observaron. Además, también podemos afirmar que el factor fundamental en la remoción del cadmio en el humedal es el material de soporte, y no las plantas de *Typha*, como se pretendía que fuera originalmente. Esto debido a la gran capacidad del material granular para modificar el pH de una solución ácida, lo que llevaría al efecto más probable de precipitación del cadmio en la solución o de su adsorción, muy favorable a un pH cercano a la neutralidad, así como también a los procesos de intercambio catiónico y adsorción presentes en la superficie del material de soporte (Müllerova, *et al*, 2003; USEPA, 2009).

Patrón de comportamiento del arsénico en el humedal. En el caso del arsénico, el humedal fue capaz de remover respecto a la concentración inicial, valores cercanos hasta de 1.7 ppm (día 84); y aunque también se presentó un incremento en la concentración del afluente respecto a lo que se había propuesto (se llegaron a tener valores de entrada de hasta 2.6 ppm), el humedal seguía teniendo una mediana

capacidad de disminuir estos niveles cerca del 50% (Anderson, *et al*, 1999; Tu y Ma, 2001), que se asume se presente por la competencia con los otros elementos, ya que en humedales en dónde sólo se ha probado arsénico en concentraciones similares a las de este estudio, los niveles de remoción son cercanos al 90% (Mates, *et al*, 2004; Buddhawong, 2005; Alarcón-Herrera, *et al*, 2007).

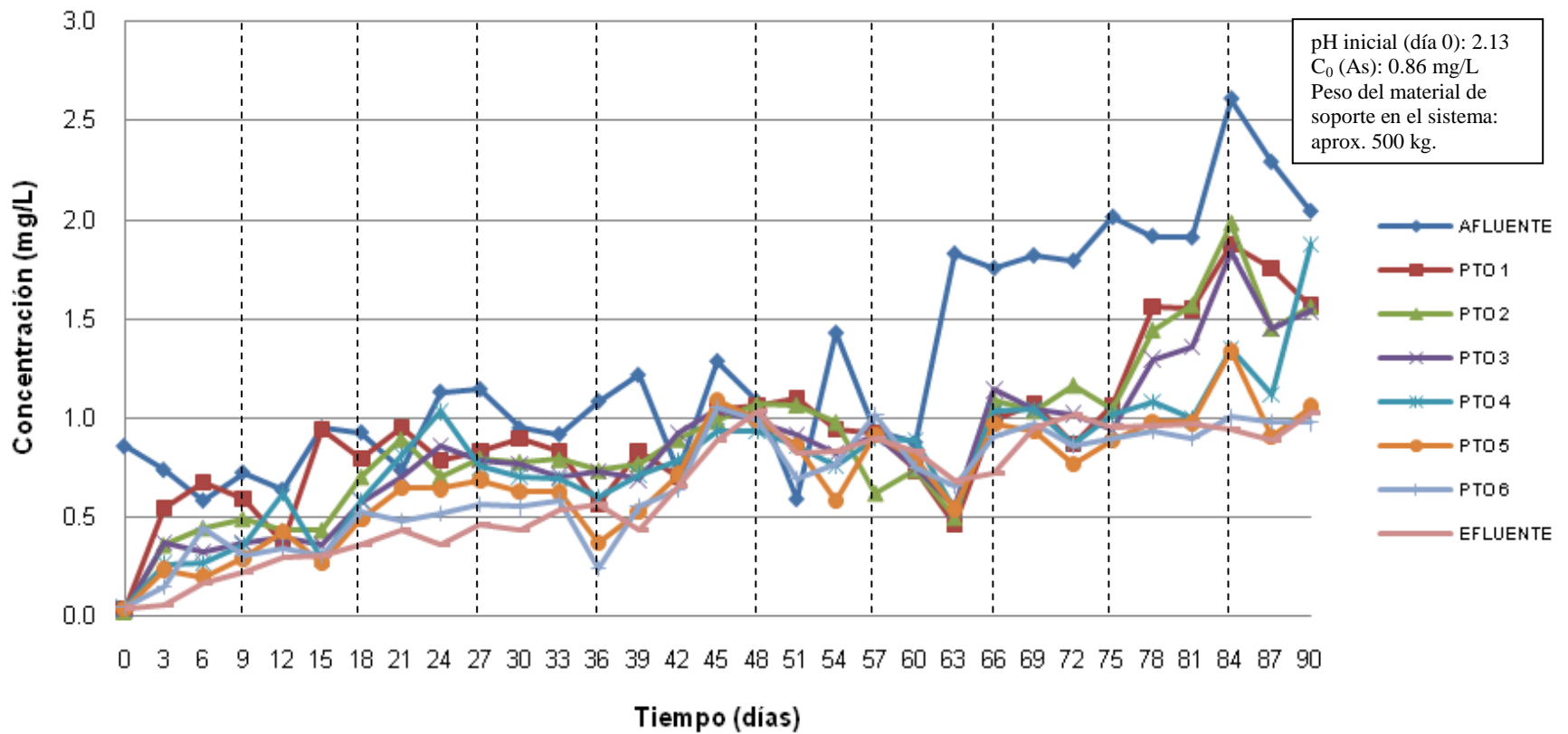


Figura 4.18. Variación de la concentración de arsénico total disuelto durante el período de experimentación en el afluente, los seis puertos de muestreo y en el efluente del humedal. Las líneas verticales indican los días en que se realizó alimentación de solución de metales y As al humedal.

Patrón de comportamiento del cromo en el humedal. Los resultados de la remoción de cromo con respecto del tiempo en la solución del humedal se presentan en la Figura 4.18. La figura muestra dos comportamientos definidos: 1) variación irregular de la concentración entre 0-48 días de experimentación, y 2) mantenimiento de una concentración constante entre 48-90 días de experimentación. El primer caso se explica por la recirculación del efluente en el cual no fue posible el control de la concentración del Cr porque este elemento no se pudo analizar en. Asimismo, el incremento en la concentración que se detectó en los diferentes puntos de muestreo (hasta 12 mg/L) se pueden explicar porque el cromo se encontraba en la solución como $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$, es decir, un anión cuya adsorción es más favorable a pH ácido. Al aumentar el pH, el cromo se desorbió del material de soporte, lo que provocó un incremento en la concentración de éste a lo largo del humedal en valores mayores a los de la concentración del afluente (Litz, 2006; Leyva-Ramos, *et al*, 2008; Takashi, 2008; Barakat, 2008). Aunque a lo largo del tiempo de duración del experimento se puede apreciar una disminución de la concentración de Cr en el humedal, ésta es poco significativa. La disminución de la concentración entre los días 36 a 42 sólo parece que se puede explicar por una disminución del pH, sin embargo no se tienen evidencias adicionales que permitan explicar este comportamiento.

Finalmente es necesario indicar que las variaciones irregulares de la concentración de Cr en la solución del humedal dan testimonio de la poca capacidad de remoción del humedal para este elemento, lo cual concuerda también con lo observado en las pruebas de remoción de Cr por la grava y por las raíces (Makos y Hrnecir, 1995; Mel Lytle, *et al*, 1998; Xu y Jaffé, 2006).

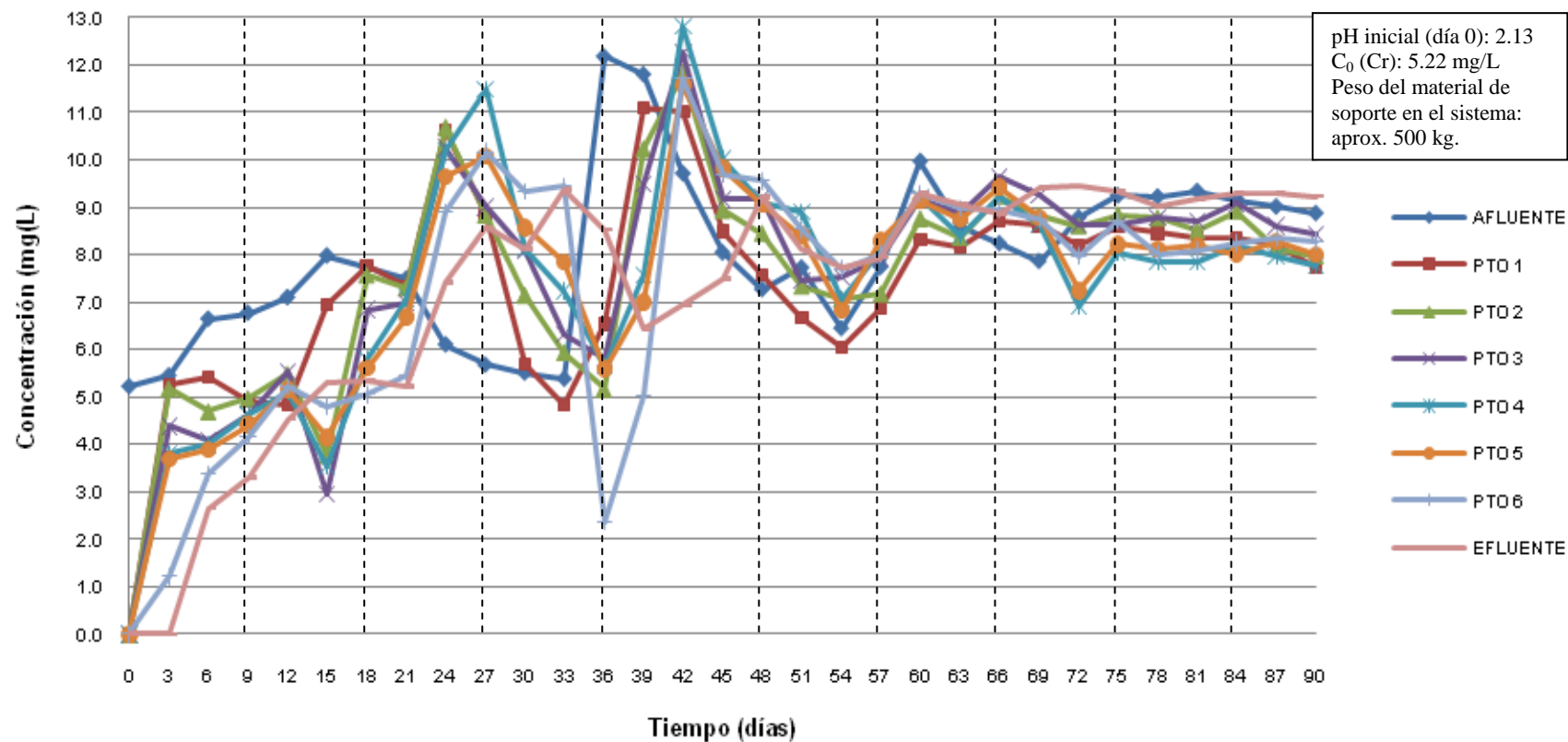


Figura 4.19. Variación de la concentración de cromo total disuelto durante el período de experimentación en el afluente, los seis puertos de muestreo y en el efluente del humedal. Las líneas verticales indican los días en que se realizó alimentación de solución de metales y As al humedal.

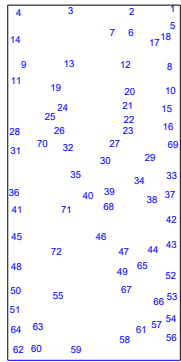
Efecto de la solución tóxica sobre el desarrollo de las plantas.

Cada 15 días durante la experimentación, las plantas se midieron y se contaron para llevar un registro de la cobertura vegetal en el humedal. Los resultados se muestran en la Tabla 4.3. Los esquemas presentados en la Figura 4.20 nos permiten dar una idea más clara del efecto de los elementos tóxicos en el material vegetal del humedal. La distribución del daño en el crecimiento de las plantas obedece a que en los esquemas sólo aparecen aquellas plantas que tuvieron una longitud mayor a la que se registró en la medición previa (Figura 4.20A). Cada uno de los esquemas representa la fecha en que se tomó el registro del conteo y la medición, destacándose el correspondiente al 20 de abril del 2008, en donde todas las plantas del humedal habían sido afectadas en su desarrollo. Sin embargo, después de esta fecha, es posible observar en los últimos 2 esquemas (6 y 21 de mayo del 2008) la aparición de nuevas plantas de *Typha*, teniéndose al final de la experimentación un total de 5 nuevas plantas que se desarrollaron en presencia de una gran concentración de elementos tóxicos, primordialmente de cromo (concentración promedio en el humedal de 8.5 mg/L) y arsénico (concentración promedio en el humedal de 1 mg/L). Esta observación coincide con los resultados obtenidos en los controles previos a la experimentación del humedal y mostrados en las Figuras 4.11 A, B y C de la sección 4.7.

Tabla 4.3. Características generales de altura y aspecto de las plantas en el humedal.

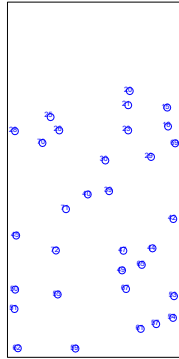
Fecha de la medición	21-02-08	7-03-08	21-03-08	5-04-08	20-04-08	6-05-08	21-05-08
Plantas sin evidencias de daño	72	32	20	14	-	3	4
Altura menor (cm)	16.5 (#70)	25.5 (#70)	29.5 (#70)	29.5 (#70)	-	6.5 (#75)	6.5 (#77)
Altura mayor (cm)	125.5 (#4)	114.5 (#50)	110.5 (#42)	110.5 (#42)	-	16.5 (#73)	20.5 (#74)
Altura promedio (cm)	70	70.3	65.5	70.1	-	12.2	14.5
Número de hojas verdes	384	171	83	65	11	30	29
Número de plantas sin daño en las hojas	72	62	44	37	9	22	16

Nota: el número entre paréntesis significa el número de planta en el humedal.

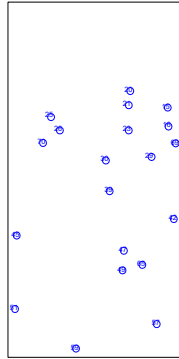
A

21 FEBRERO 08

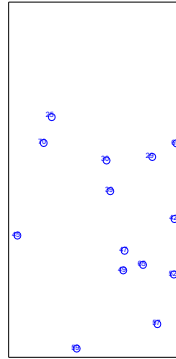
DISTRIBUCIÓN DE PLANTAS CON DAÑO EN CRECIMIENTO



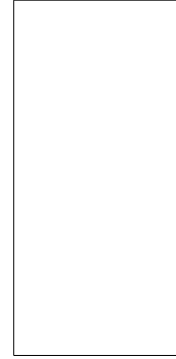
7 MARZO 08



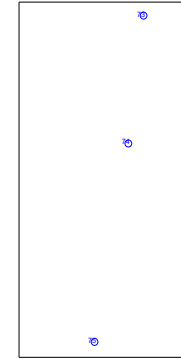
21 MARZO 08



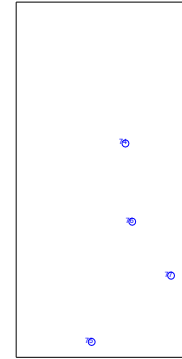
5 ABRIL 08



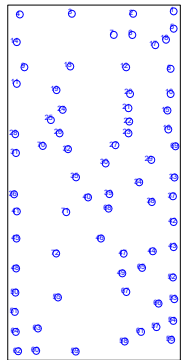
20 ABRIL 08



6 MAYO 08

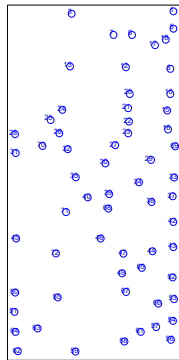


21 MAYO 08

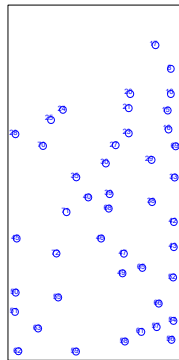
B

21 FEBRERO 08

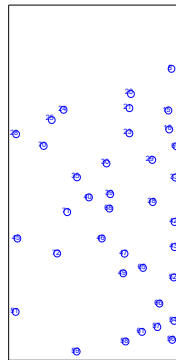
DISTRIBUCIÓN DE PLANTAS CON DAÑO EN HOJAS



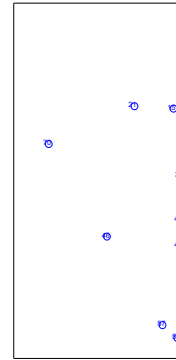
7 MARZO 08



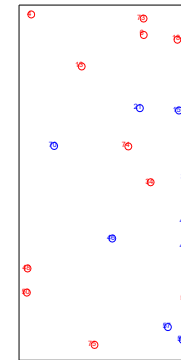
21 MARZO 08



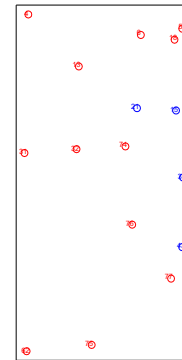
5 ABRIL 08



20 ABRIL 08



6 MAYO 08



21 MAYO 08

Figura 4.20. Esquemas de distribución espacial de las plantas en el humedal que presentaron daño en el crecimiento (A) y daño en las hojas (B). Los puntos azules representan a las plantas que no demostraron daño aparente en cada fecha. Los puntos rojos representan las plantas que una vez teniendo daño en sus hojas, presentaron el crecimiento de nuevas hojas.

Los esquemas de la distribución de las plantas con daño en las hojas de la Figura 4.20B obedece a que en éstos sólo aparecen aquellas plantas que tuvieron hojas verdes completas (de la base del humedal a la punta de la hoja, ej. en el primer esquema del 21 de febrero 08, aparecen todas las plantas que se sembraron en el humedal), independientemente de su longitud, y que no mostraran signos de marchitamiento, clorosis o deshidratación. En los estudios previos con esta planta se asumió que los signos mencionados aparecen como consecuencia de su exposición a soluciones tóxicas (Carranza, 2005; Alonso, 2005; Pecina, 2008).

Clorofila. Para corroborar el análisis cualitativo que se realizó previamente del efecto de los elementos tóxicos en las plantas de *Typha*, se presentan a continuación los resultados de la cuantificación de la clorofila en 11 plantas (ver Figura 4.21), elegidas al azar buscando representar toda el área superficial del humedal, según lo descrito en la sección 3.10 de este documento.

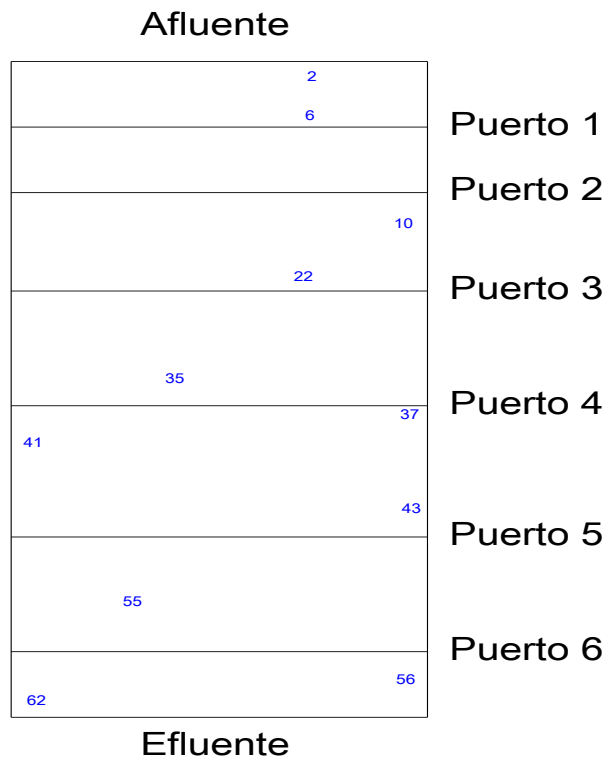


Figura 4.21. Esquema que muestra la distribución de las plantas que se eligieron al azar en el humedal para la determinación de clorofila.

La determinación de la concentración de clorofila se realizó en hojas de las plantas de *Typha* por extracción con acetona y análisis por Espectrofotometría UV-Visible según se indicó en la sección 3.10.2 de la metodología. Los resultados se muestran en la Figura 4.22. Los análisis de clorofila se extendieron sobre los primeros 45 días de experimentación ya que aunque las raíces parecían seguir desarrollándose, las hojas se secaron casi por completo. Por esta razón, para los días posteriores no se realizó el análisis.

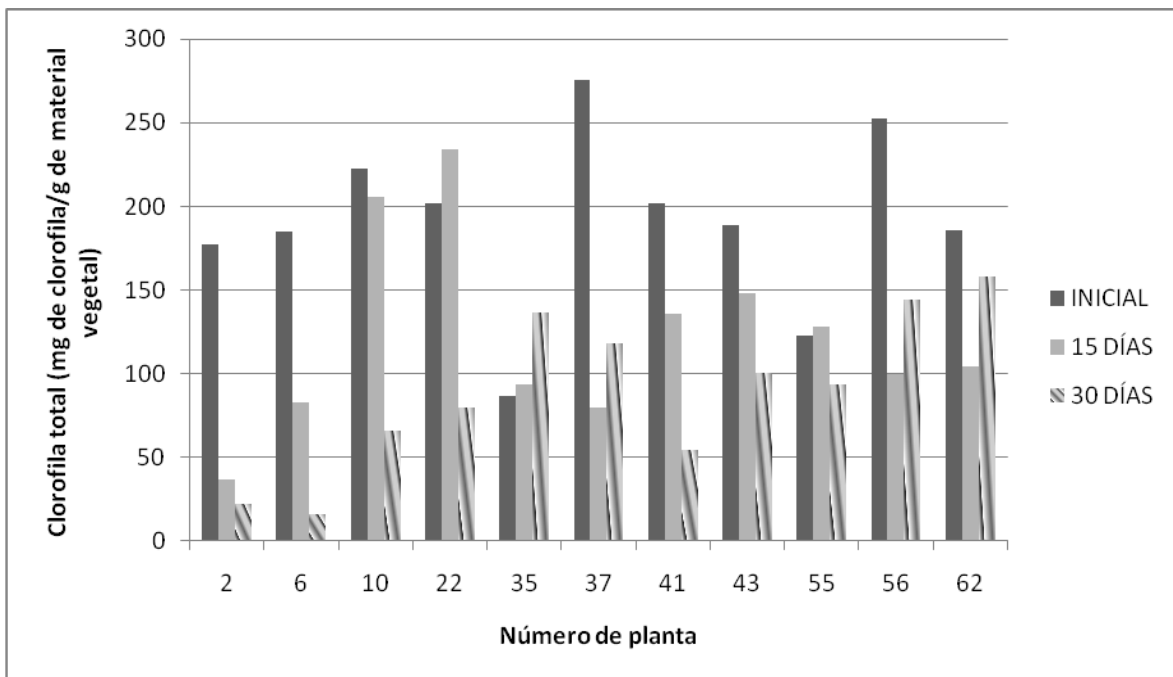


Figura 4.22. Concentración total de clorofila en función del tiempo de experimentación en el humedal construido con *Typha latifolia*.

En la gráfica se puede apreciar que el efecto tóxico de los elementos a los que se encontraban expuestas las plantas de *Typha*, se pudo determinar por una disminución clara de la concentración de la clorofila a los 15 días y 30 días. El daño tan drástico en las plantas al inicio de la experimentación fue más evidente en aquellas cercanas al afluente y pudo deberse a un efecto del pH ácido (ver Figuras 4.23 B y D). Se debe tener en cuenta que en el puerto 1 de muestreo se registró el pH más bajo, que fue de 1.6 a los tres días de iniciada la experimentación, factor que pudiera influir en los resultados observados en la gráfica.

También es necesario destacar que a los 30 días de experimentación se registró un incremento de clorofila en algunas plantas. Lo anterior se consideró como un signo de crecimiento y tolerancia a los elementos tóxicos. La Figura 4.23 muestra aspectos del humedal al inicio y al final del período experimental.

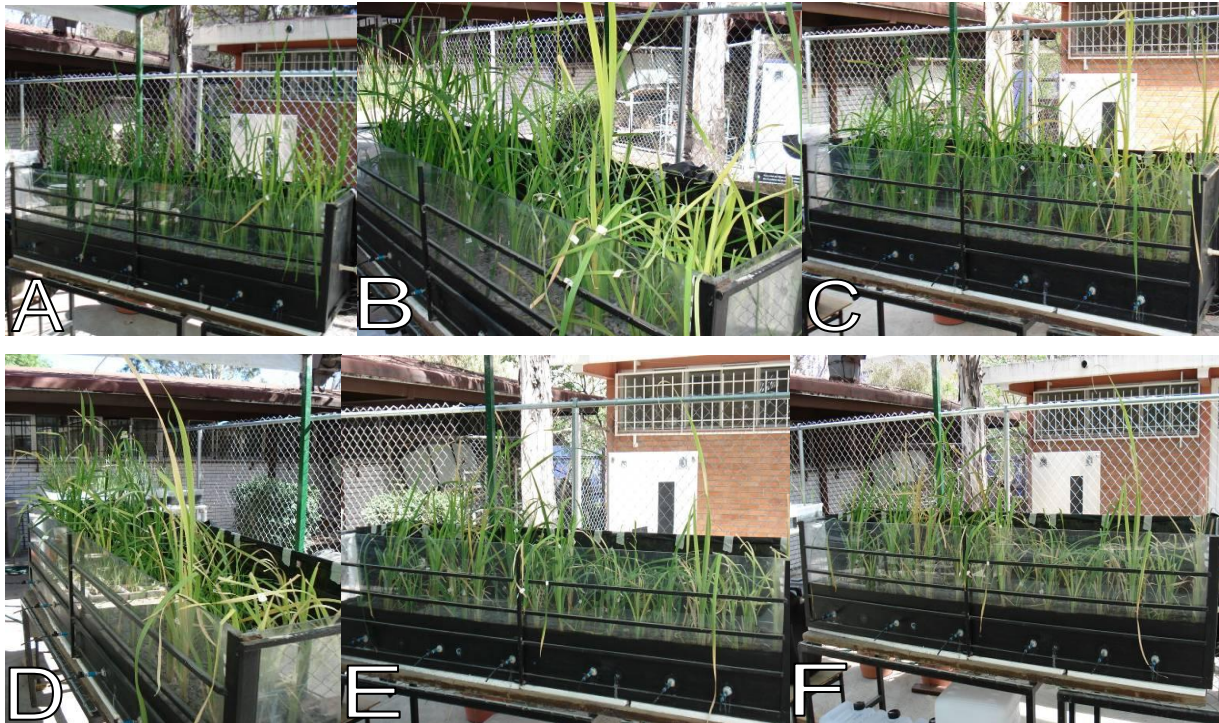


Figura 4.23. Aspectos de las plantas en el humedal en diferentes fechas de la experimentación: (A) 22 de Febrero, 2008; (B) 25 de Febrero, 2008; (C) 28 de Febrero, 2008; (D) 5 de Marzo, 2008; (E) 13 de Marzo, 2008, y, (F) 17 de Marzo, 2008.

Con estos resultados es evidente que las plantas de *Typha* tienen un gran valor, como parte fundamental de los humedales contruidos para el tratamiento de aguas, ya que además de estar comprobada su efectividad en la remoción de nutrientes (nitratos, fosfatos) (USEPA, 1993, 1998, 1999), también se presenta como una opción sumamente atractiva en la remoción de elementos tóxicos tales como metales o arsénico debido a su gran capacidad de tolerancia a este tipo de contaminantes (Ye, 1997; Xu y Jaffé, 2006 ; Carranza, 2005; Alonso, 2005; Pecina, 2008).

4.9 Adsorción y acumulación de Cd, As y Cr por las plantas de *Typha latifolia*.

En lo referente a la adsorción de los elementos tóxicos por la raíz de las plantas de *Typha latifolia*, en la Figura 4.24 se muestran las cantidades de Cd, As y Cr que se adsorbieron en el humedal en 2 plantas de cada uno de los 6 puertos de muestreo conforme a lo descrito en la metodología en la sección 3.10.3. Las cantidades mostradas corresponden a un promedio generado por 2 plantas seleccionadas de cada puerto que, por la reducida cantidad de valores utilizados, generan una desviación estándar muy grande. Como se puede observar, los elementos tóxicos se adsorben a la raíz en un orden de $Cd \gg Cr > As$, lo que parece demostrar que las raíces mantienen una preferencia de adsorción a cationes (Cd^{+2}) sobre los aniones (Cr y As).

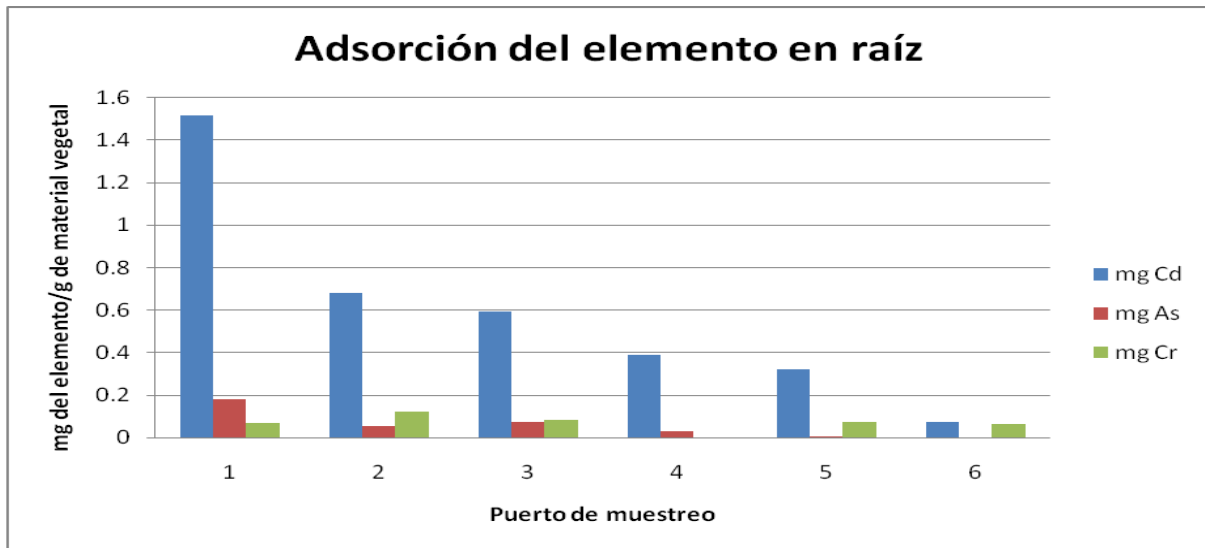


Figura 4.24. Adsorción de Cd, As y Cr a las raíces de *Typha latifolia* a lo largo de los 6 puertos de muestreo.

Además, se observa claramente como las plantas que demostraron mayor capacidad de adsorción tanto en las raíces como en las hojas, son aquellas que se encontraban más cerca del efluente, particularmente en los puertos de muestreo 1, 2 y 3.

En lo que respecta a la adsorción del Cd, As y Cr a la parte aérea de las plantas (10 cm adyacentes a la raíz) de *Typha latifolia*, en la Figura 4.25 se muestran los resultados de tal comportamiento, y se puede observar que se mantiene una tendencia similar a la figura anterior, en donde el cadmio es el elemento que presenta mayor adsorción a la materia vegetal en los primeros 10 cm de altura del tallo.

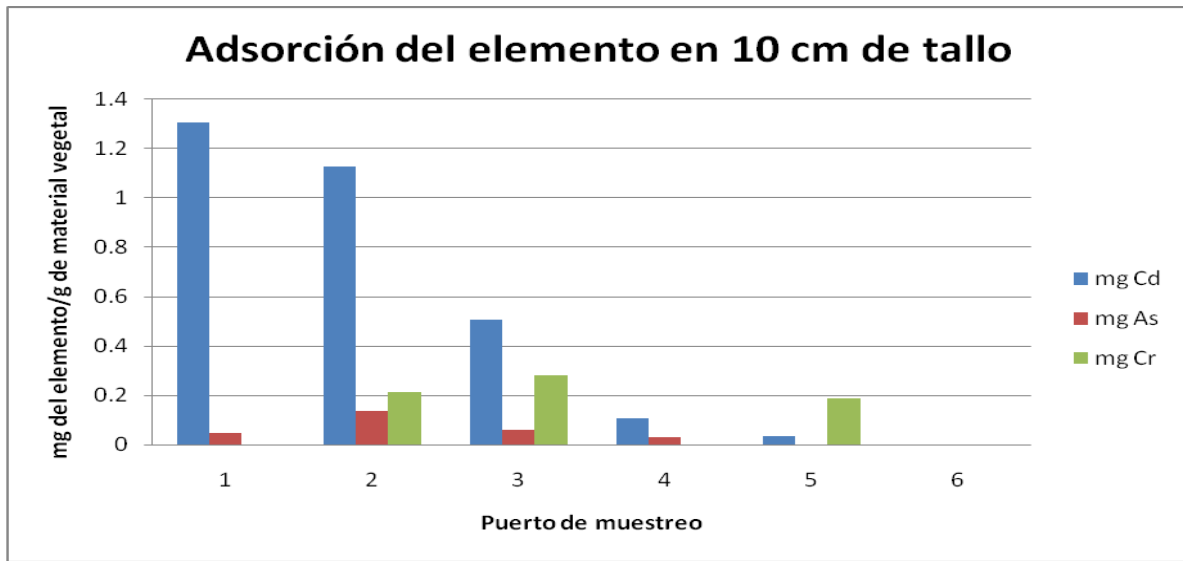


Figura 4.25. Adsorción de Cd, As y Cr en los 10 cm iniciales del tallo de las hojas de las plantas de *Typha latifolia* a lo largo de los 6 puertos de muestreo.

En las Figuras siguientes (4.26 y 4.27), se observa el comportamiento de acumulación del Cd, As y Cr en la raíz (Figura 4.26) y en los 10 cm de tallo adyacentes a la raíz de las plantas de *Typha latifolia* (Figura 4.27). En este caso, la tendencia fue radicalmente opuesta a la mostrada en la adsorción de los elementos, ya que es el Cr el elemento que presentó una mayor acumulación en ambos casos (en la raíz y en los primero 10 cm de tallo de las plantas), seguido por el Cd en cantidades muy inferiores. En el caso del arsénico, no se detectó concentración en los análisis de cuantificación. Con esto se prueba la capacidad de las plantas de *Typha latifolia* de acumular elementos tóxicos aún ante una solución de contaminantes en mezcla, tal y como se había establecido en estudios previos durante pruebas individuales (Ye, 1997; Carranza 2005; Alonso, 2005; Pecina, 2008; Leura Vicencio, 2009) y en humedales (Raskin, *et al*, 1994; Rivetta, *et al*, 1997; Manios, *et al*, 2003; Maddison, *et al*, 2005; Vymazal, 2005).

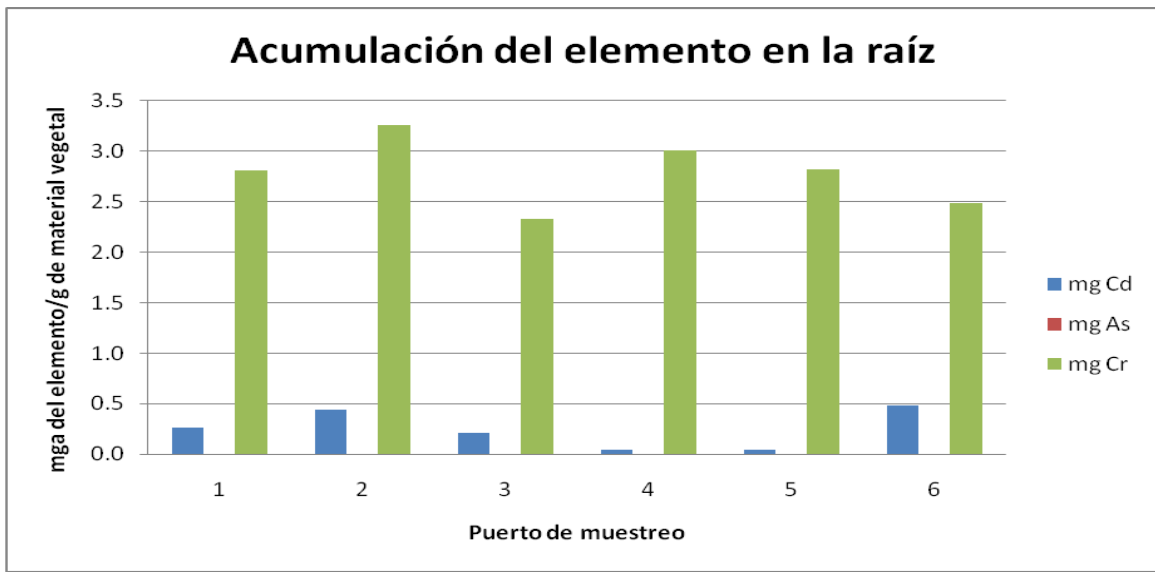


Figura 4.26. Acumulación de los elementos tóxicos en la raíz de las plantas de *Typha* a lo largo de los 6 puertos de muestreo.

A diferencia de la adsorción de los elementos, la acumulación de éstos se presentó a lo largo de todo el humedal, ya que se tuvo presencia de masa de los elementos en las plantas de los 6 puertos de muestreo del sistema. Cabe señalar que la capacidad de acumulación de las raíces por sobre las hojas es mayor, se presentaron incluso en valores por encima del doble de masa acumulada en la raíz que en las hojas, aunque se destaca el hecho de que la planta fue capaz de traslocar cierta parte de los elementos tóxicos a un tramo de su parte aérea, tal y como se muestra en la Figura 4.27.

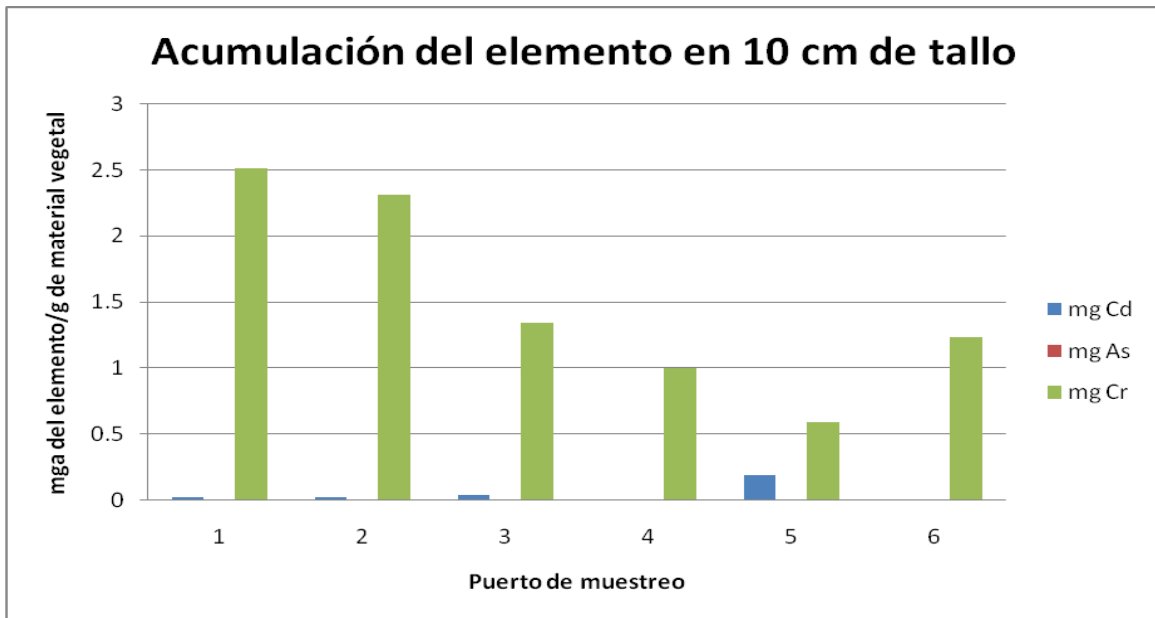


Figura 4.27. Acumulación de los elementos tóxicos en los primeros 10 cm del tallo de las plantas de *Typha* en los 6 puertos de muestreo.

En las siguientes figuras se muestran las comparaciones individuales de cadmio, arsénico y cromo respecto a la adsorción y acumulación en la raíz y los 10 cm del tallo de las plantas de *Typha*. En la Figura 4.28 se observa como la adsorción del Cd (1.4 mg Cd/g de material vegetal en el puerto 1) fue el mecanismo primordial utilizado por las plantas de *Typha* dentro del humedal, ya que la acumulación de este elemento fue mínima (0.4 mg Cd/g de material vegetal en el puerto 6), lo que nos hace concluir que la afinidad por cationes es un mecanismo prioritario para la planta. En el caso del arsénico, éste elemento presentó la menor cantidad de masa adsorbida de los tres elementos (0.18 mg As/g de material vegetal) y acumulada (no se detectaron valores en su cuantificación), debido a la competencia que se pudo haber generado entre este elemento y la adición de fósforo al humedal como un nutriente para las plantas durante todo el periodo de experimentación

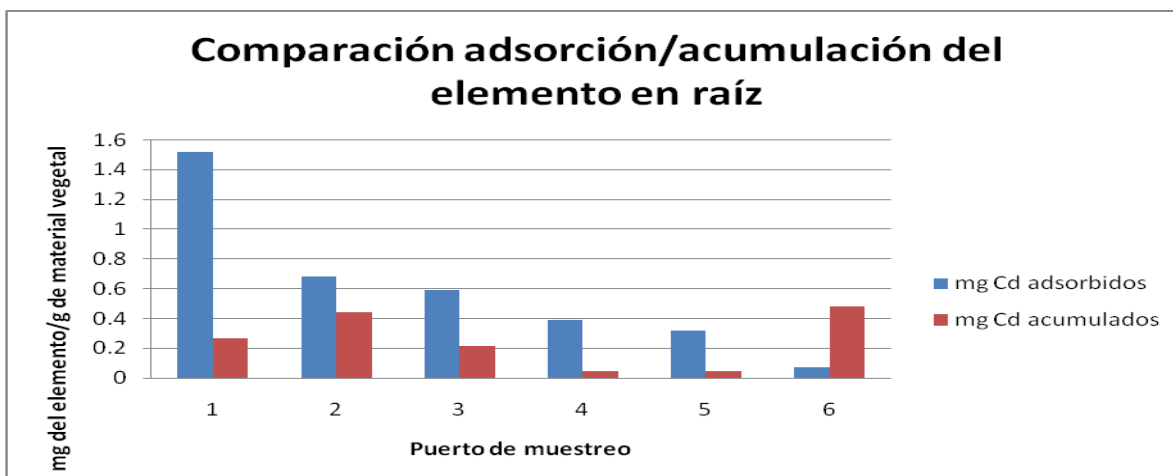


Figura 4.28. Comparación adsorción/acumulación del Cd en la raíz de las plantas de *Typha* en los 6 puertos de muestreo.

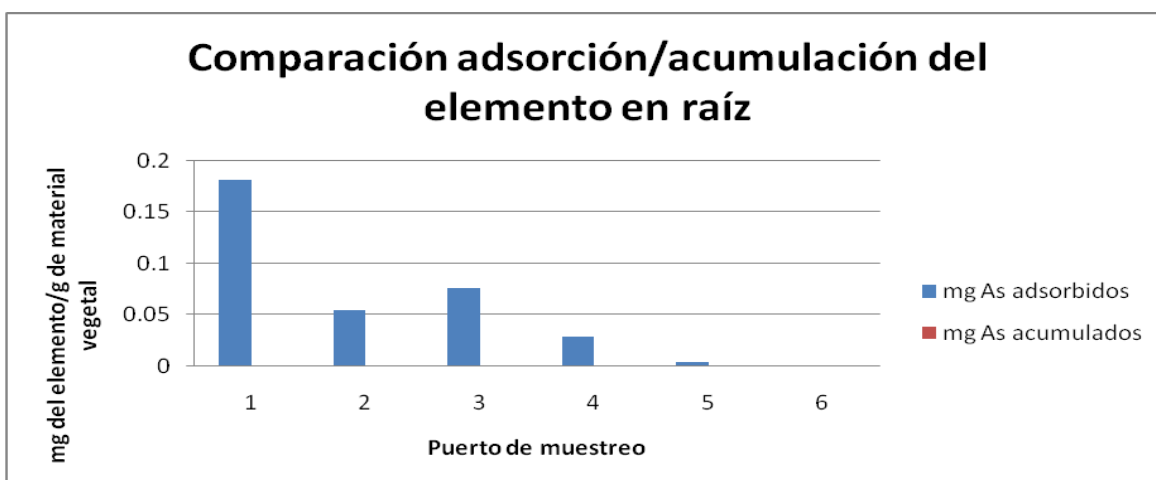


Figura 4.29. Comparación adsorción/acumulación del As en la raíz de las plantas de *Typha* en los 6 puertos de muestreo

En la Figura 4.30 se aprecia que el mecanismo de acumulación del cromo fue el que tuvo una mayor actividad durante el tiempo de experimentación, mientras que quedó demostrado que no existe una gran afinidad a la adsorción de aniones por parte de las plantas de *Typha*.

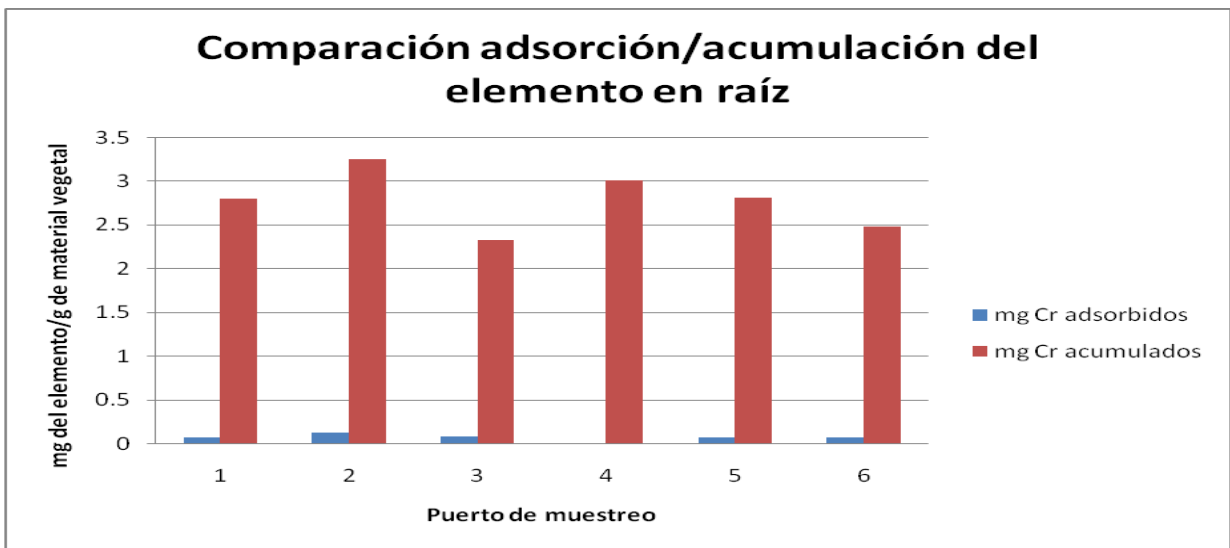


Figura 4.30. Comparación adsorción/acumulación del Cr en la raíz de las plantas de *Typha* en los 6 puertos de muestreo.

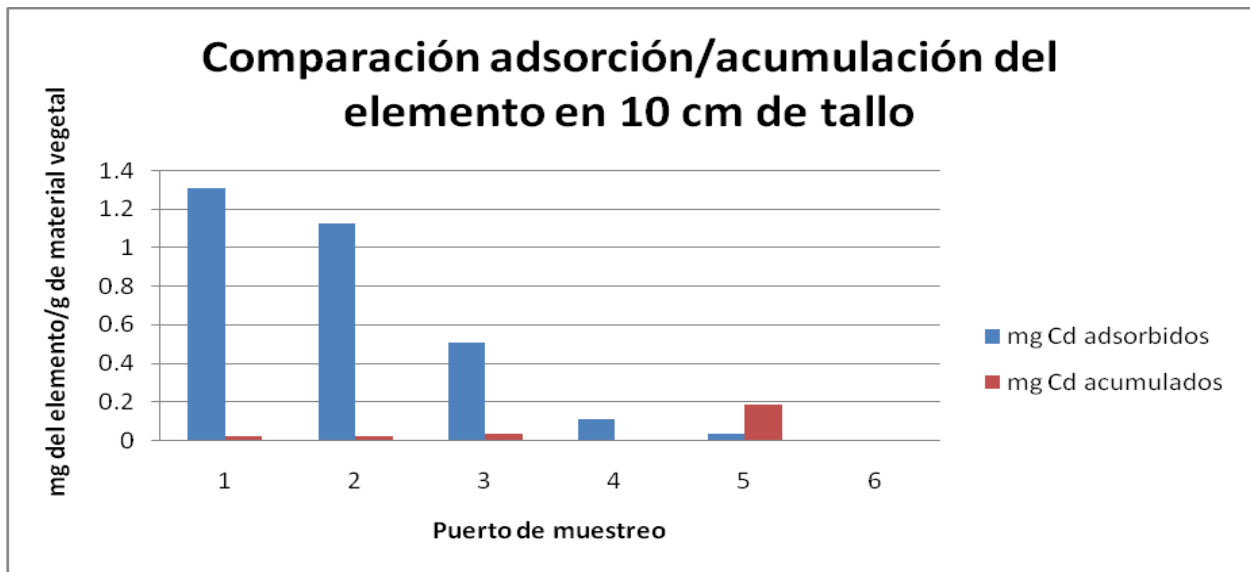


Figura 4.31. Comparación adsorción/acumulación del Cd en los 10 cm de tallo de las plantas de *Typha* en los 6 puertos de muestreo.

Respecto a los 10 cm adyacentes a la raíz, el Cd presenta una mayor afinidad de adsorción a las estructuras de las plantas de *Typha*, como se corrobora en la Figura 4.31, donde se observa que en los primeros 3 puertos de muestreo es en donde se desarrolló la mayor adsorción de este elemento al tallo de las plantas. Esto es acorde a

los resultados obtenidos de la remoción gradual del cadmio a lo largo del humedal de la columna de agua, mostrados en la Figura 4.13 de este capítulo, aunque discrepan de la capacidad demostrada por las plantas de *Typha latifolia* en cuanto a la acumulación de este elemento en pruebas individuales expuestas solamente a este elemento (Ye, *et al*, 1997; Pecina, 2008; Leura, 2009), lo que muy probablemente se deba al efecto amortiguador del material de soporte con respecto al pH y a la consecuente baja concentración de Cd biodisponible para las plantas en el humedal.

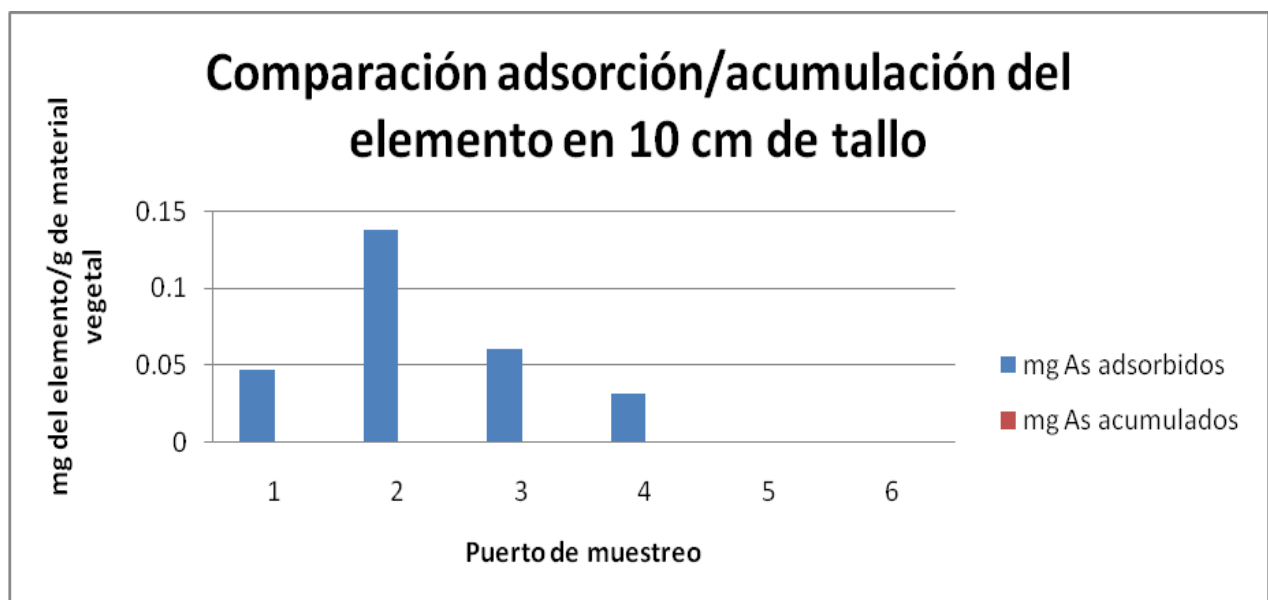


Figura 4.32. Comparación adsorción/acumulación del As en los 10 primeros cm de tallo de las plantas de *Typha* en los 6 puertos de muestreo.

En el caso del As, nuevamente se observa que adsorción fue el mecanismo que prevaleció para estas estructuras de las plantas de *Typha*, aunque todavía en niveles muy bajos (0.13 mg As/g de material vegetal, en las plantas del puerto 2), mientras que la acumulación continuó siendo nula, por las razones presentadas previamente en la discusión de la Figura 4.29.

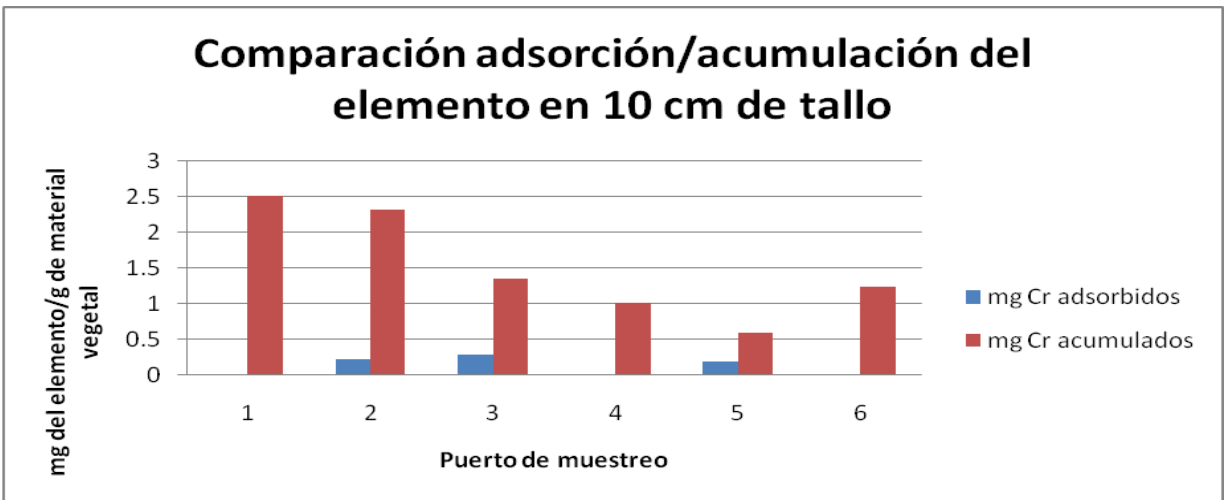


Figura 4.33. Comparación adsorción/acumulación del Cr en los 10 cm de tallo de las plantas de *Typha* en los 6 puertos de muestreo.

Para finalizar, en la Figura 4.33 se observa que la acumulación del Cr en el tallo fue mayor que su adsorción, lo que demuestra la capacidad de las plantas de *Typha* para traslocar a este elemento tóxico a una zona particular de su parte aérea, a través de la captación por las raíces (Ye, *et al*, 1997; Pecina, 2008; Leura, 2009). De nueva cuenta, la acumulación fue el mecanismo primordial de las plantas frente a este elemento.

Capítulo 5

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones, recomendaciones y trabajos futuros

De acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo, se puede concluir lo siguiente:

- La Tierra Comercial Pro-Mix® es un sustrato idóneo para el desarrollo de las plantas de *Typha*, así como los materiales granulares utilizados en este trabajo (grava y piñón). La adición de soluciones nutritivas, Medio MS® en el caso de este trabajo, son necesarias para un desarrollo rápido y óptimo de las plantas. La solución utilizada en este estudio se preparó en una relación de 1L (siguiendo las indicaciones de preparación del fabricante) por cada 60 L de agua que se añadieron al humedal. Es necesario abrigar de la luz a las raíces de las plantas de *Typha* para evitar la formación de algas.
- Los materiales seleccionados para la construcción del humedal son adecuados para simular las condiciones de un humedal construido. La selección de policarbonato de alto impacto por sobre acrílico, previo a la construcción del humedal fue fundamental en el proceso, ya que las características del material permitieron resistir a la presión ejercida sobre las paredes del humedal debido a la configuración propia del sistema. Se recomienda su uso para trabajos futuros sobre humedales construidos a nivel microcosmos.
- Considerando las concentraciones de elementos en el afluente (Cd: 7.11 mg/L, As: 1.27 mg/L y Cr: 7.94 mg/L, en promedio) y en el efluente (Cd: 0 mg/L, As: 0.64 mg/L y Cr: 7.22 mg/L, en promedio), y el pH del sistema que se mantuvo entre 7 y 8, el humedal construido de flujo subsuperficial resultó sumamente eficiente en la remoción de Cd (100% de remoción), medianamente eficiente en la remoción de As (48% de remoción) e ineficiente para la remoción de Cr (9.1% de remoción) en un período de experimentación de 90 días. Estos resultados se

obtuvieron a causa de la capacidad del material de soporte para reaccionar con el Cd (capacidad de remoción obtenida en laboratorio de 79.2 mg Cd/kg de material, para el caso de la mezcla utilizada de piñón y grava) y el As. Mientras que para el caso del Cr, el resultado presentado es probable que se deba a que a los niveles de pH que se mantuvieron en el sistema durante la experimentación no favorecían a la adsorción de aniones y a que en la fitorremediación, el elemento estuvo en competencia con el fósforo adicionado como nutriente a la solución.

- Los procesos responsables de la remoción del cadmio se basan en la capacidad del material de soporte para modificar el pH de soluciones ácidas hasta valores entre 7 y 8. En estas condiciones, el metal fue adsorbido por el material de soporte (Rieuwerts, *et al*, 1998; Reichman, 2002; Silveira, *et al*, 2003; Basta, 2004). Es posible que otros procesos se hayan producido en forma simultánea, sin embargo, las concentraciones que se utilizaron no son lo suficientemente altas como para favorecer procesos como la precipitación. La interacción de Cd con el material granular del humedal fue el proceso dominante en la remoción, siendo más efectivo que la propia planta en la extracción del metal de la solución. Dicha interacción disminuyó de forma considerable la concentración disponible de Cd para *Typha latifolia*. Lo anterior se observó tanto en la experimentación con el humedal (Figura 4.13) como en las pruebas tipo lote (Figuras 4.9, 4.16 y 4.17) que se realizaron en el laboratorio para evaluar la capacidad de remoción de Cd por el material de soporte de las plantas.
- Los efectos fitotóxicos de la mezcla de Cd, As y Cr, aunados a los de un afluente ácido (pH <3) en el inicio de la experimentación tuvieron un fuerte impacto negativo sobre el desarrollo de las plantas de *Typha latifolia*. Sin embargo, aún y con el daño que sufrieron, ciertos individuos sobrevivieron e intentaron adaptarse a la mezcla tóxica (Figura 4.20). Lo anterior se fundamenta en el crecimiento de nuevas hojas en plantas que sufrieron daños durante la experimentación, los

valores de la cuantificación de clorofila presentados en la Figura 4.22, así como el desarrollo de nuevos brotes al final del período de experimentación tanto en el humedal (Figura 4.20), como en los experimentos en laboratorio (Figura 4.11).

- Se verificó que las plantas de *Typha latifolia* en el humedal fueron capaces de remover los elementos de la solución. Sin embargo, en este sistema, el mecanismo de fitorremediación que inicialmente se pretendió impulsar con el diseño del humedal (acumulación), resultó cumplir con un papel menor que el relacionado con la capacidad de remoción del material de soporte para el caso del cadmio, nulo para el arsénico, y en el caso del cromo, aunque si se presentó acumulación por parte de las plantas de *Typha*, a nivel general, los niveles de acumulación no fueron reflejados en la disminución de los valores de este metal en el efluente del sistema.

Recomendaciones:

- En el diseño del humedal se debe reconsiderar el diámetro de las tuberías y el tipo de válvulas que controlan los flujos del afluente y el efluente para una medición más precisa de los gastos de entrada y salida, ya que los diámetros utilizados fueron excesivos para el flujo utilizado en la experimentación, y el tipo de válvula no permitió el control preciso de los gastos.
- Los recipientes que contienen al afluente y el efluente del sistema deberán ser sometidos a pruebas previas para comprobar que no afecten las concentraciones de entrada y salida de los mismos, que pudieran ser modificadas por alguna reacción del material de los recipientes con la solución de prueba. Esto debido a que en el caso del cadmio, se calculó y preparó la solución de este elemento para una concentración de 10 ppm y al tomar la muestra en el recipiente del afluente, el promedio fue de 7.12 ppm.

- Respecto a los puertos de muestreo, es necesario estudiar si el material con el que se elaboraron (acero inoxidable) es inocuo a reacción alguna con los componentes de la solución tóxica o al pH de la misma, dejando para futuras investigaciones la recomendación de buscar innovaciones en el diseño de tal configuración de puertos de muestreo.
- Para incrementar el porcentaje de cobertura vegetal en el humedal y favorecer el desarrollo radicular de las plantas se requiere incrementar el período de adaptación y crecimiento de *Typha latifolia*. En el presente trabajo, el período de adaptación de las plantas de *Typha* en el humedal fue de mes y medio, debido a causas ajenas a la investigación, y se considera que no fue suficiente ya que no se estableció un desarrollo radicular que simulara al alcanzado en ambientes naturales, además, de que se ha recomendado un período mínimo de tres meses para alcanzar una cobertura vegetal deseada (cerca del 90%) para el inicio del tratamiento de un agua residual (USEPA, 1991).

Trabajos Futuros:

- Con el conocimiento adquirido a través de esta investigación se propone que los trabajos futuros en donde se pretenda remover metales pesados en mezcla, se realicen con sistemas mixtos de humedales distribuidos en varias celdas, en donde se coloquen diferentes especies de plantas en cada una de ellas, para la remoción escalonada de cada uno de los elementos, ya que se ha comprobado que existe especies de plantas con una capacidad específica de remoción para ciertos elementos tóxicos. Aquí habría que estudiar la combinación de tipo de humedal y especies de plantas más efectiva para la remoción de los contaminantes. Los sistemas mixtos utilizarían humedales de flujo subsuperficial, superficial y de plantas acuáticas flotantes simultáneamente en las diferentes celdas. Además, se propone que al final del sistema se incluya un biofiltro reemplazable en la tubería de descarga, para la adsorción de los elementos que

no hayan sido removidos a los niveles requeridos por las Normas Nacionales e Internacionales por las celdas del humedal, antes de ser devueltos a los cuerpos de aguas receptores. El sistema que se propone presentaría un esquema general como el que se muestra en la Figura 5.1.

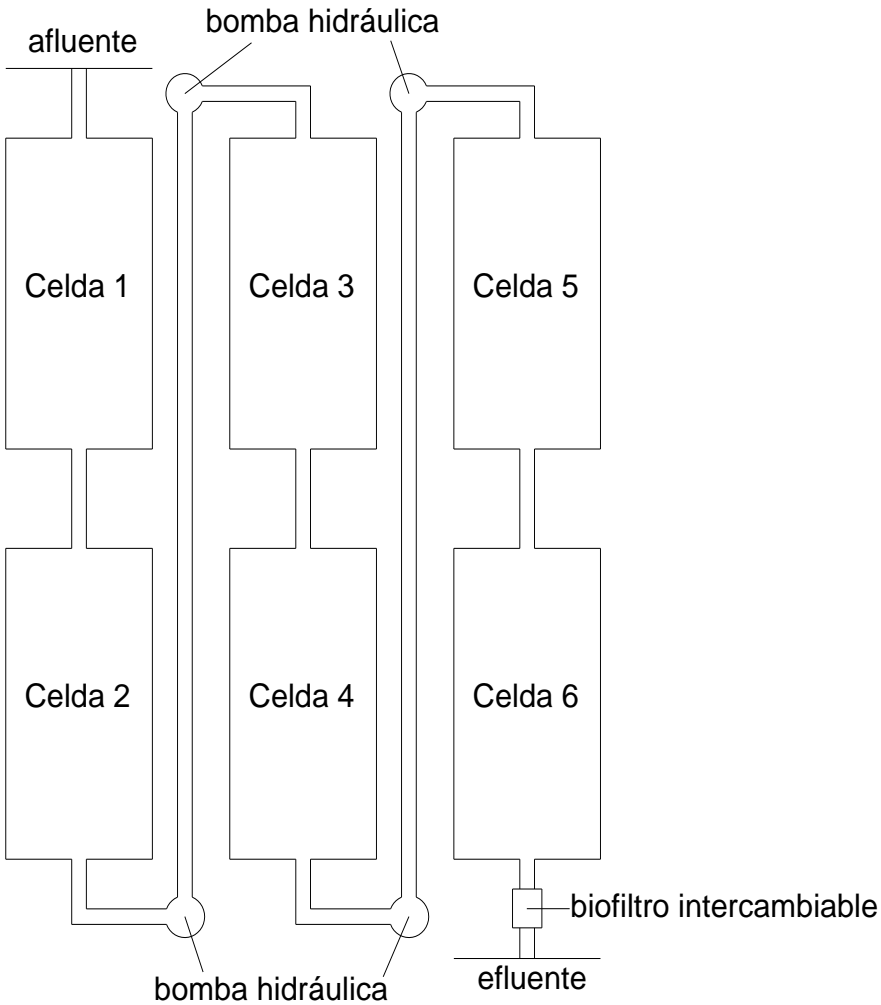


Figura 5.1. Esquema de un sistema mixto de humedales y biofiltro propuesto para la depuración de aguas residuales con elementos tóxicos.

BIBLIOGRAFÍA

- Agency for Toxic Substances & Disease Registry.** *ToxFAQs for: Cadmium, Chromium and Arsenic.* 2007. <http://www.atsdr.cdc.gov>. ATSDR.
- Akratos, C. S., V. A. Tsihrintzis.** *Effect of temperature, HRT, vegetation and porous media on removal efficiency of pilot-scale horizontal subsurface flow constructed wetlands.* 2007. *Ecological Engineering.* 29(2): 173–191.
- Aksorn, E., P. Visoottiviseth.** *Selection of suitable emergent plants for removal of arsenic from arsenic contaminated water.* 2004. *ScienceAsia.* 30: 105 – 113.
- Alarcón-Herrera, M. T., I. R. Martín, A. Benavides.** *Constructed wetlands: an alternative for arsenic removal.* 2007.
- Alonso Castro, A. J.** *Acumulación y distribución de cadmio por plantas de *Scirpus americanus* (tule) y *Typha latifolia* (espadaña) en el Tanque Tenorio.* 2005. Tesis para obtener el título de QFB. Facultad de Ciencias Químicas, UASLP.
- Álvarez, J. A., E. Bécares.** *Seasonal decomposition of *Typha latifolia* in a free-water surface constructed wetland.* 2006. *Ecological Engineering.* 28(2): 99 – 105.
- Anderson, M. B., G. D. Dombeck, M. W. Perry.** *Trace metals assimilation in treatment wetland sediments.* 1999. *Summit of Engineering.*
- Angeloni, N. L., K. J. Jankowski, N. C. Tuchman, J. J. Kelly.** *Effects of an invasive cattail species (*Typha x glauca*) on sediment nitrogen and microbial community composition in a freshwater wetland.* 2006. *FEMS Microbiol Lett.* 263: 86 – 92.
- Bañuelos, G. S.** *Factors influencing field phytoremediation of selenium-laden soils.* In: *Phytoremediation of Contaminated Soil and Water.* 2000. Ed. N. Terry, G. Bañuelos, pp. 41–61. Boca Raton: Lewis
- Barakat, M. A.** *Adsorption of heavy metals from aqueous solutions on synthetic zeolite.* 2008. *Research journal of Environmental Sciences.* 2(1): 13 – 22.
- Basta N. T., M. A. Tabatabai.** *Effect of cropping systems on adsorption of metals by soils: II. Effect of the pH.* 1992. *Soil Science.* 153: 195 – 204.
- Basta, N. T.** *Heavy metal and trace element chemistry in residual treated soil: implications on metal bioavailability and sustainable land application.* 2004. In: *Sustainable land application Conference, January 4 – 8. Florida, University of Florida.*
- Benavides, M. P., S. M. Gallego, M. L. Tomaro.** *Cadmium toxicity in plants.* 2005. *Braz. J. Plant Physiol.* 17(1): 21 – 34.
- Berti, W. R., S. D. Cunningham.** *Phytostabilization of metals.* In: *Phytoremediation of toxic metals. Using plants to clean-up the environment.* 2000. Ed. Raskin and Ensley. Pp. 71 – 88. Wiley, New York.

- Blaylock, M. J., J. W. Huang.** *Phytoextraction of metals. In: Phytoremediation of toxic metals. Using plants to clean-up the environment.* 2000. Ed. Raskin and Ensley. Pp. 53 – 70. Wiley, New York.
- Buddhawong, S., P. Kuschk, J. Mattusch, A. Wiessner, U. Stottmeister.** *Removal of Arsenic and Zinc using different laboratory model wetland systems.* 2005. *Engineering in Life Sciences.* 5(3): 247 – 252.
- Carbonell-Barrachina, A. A., F. Burló, D. Valero, E. López, D. Martínez-Romero, F. Martínez-Sánchez.** *Arsenic toxicity and accumulation in Turnip as affected by Arsenic chemical speciation.* 1999. *J. Agric. Food Chem.* 47: 2288-2294.
- Carranza, C.** *Fitoextracción de Pb, Cr, Mn y Fe por plantas de Scirpus americanus (Tule) y Typha latifolia (Espadaña) en el Tanque Tenorio.* 2005. UASLP.
- Carranza-Álvarez, C., A. Josabad Alonso-Castro, M. C. Alfaro de la Torre, R. F. García de la Cruz.** *Accumulation and distribution of heavy metals in Scirpus americanus and Typha latifolia from an artificial lagoon in San Luis Potosí, México.* 2008. *Water, Air and Soil Pollution,* 188(1-4):297-309.
- Cervantes, C., J. Campos, S. Devars, F. Gutiérrez, H. Loza, J. C. Torres, R. Moreno.** *Interactions of chromium with microorganisms and plants.* 2001. *FEMS Microbiology Reviews.* 25: 335 – 347.
- Chaney, R. L., Y. M. Li, S. L. Brown, F. A. Homer, M. Malik.** *Improving metal hyperaccumulator wild plants to develop commercial phytoextraction systems: approaches and progress. In: Phytoremediation of contaminated soil and water.* 2000. Ed. Terry and Bañuelos. Pp. 129 – 158. Boca Raton: Lewis.
- Cherian, S., M. M. Oliveira.** *Transgenic plants in phytoremediation: recent advances and new possibilities.* 2005. *Environmental Science and Technology.* 39(24): 9377 – 9390.
- Comisión Nacional del Agua (a).** *Estadísticas del agua en México 2007. Capítulo 2: Situación de los recursos hídricos.* 2007. CONAGUA. México.
- Comisión Nacional del Agua (b).** *Estadísticas del Agua en México 2007. Capítulo 4: Infraestructura Hidráulica.* 2007. CONAGUA. México.
- Comisión Nacional del Agua.** *Compendio básico del agua en México: Usos del agua.* 2002. México.
- Cunningham W. P., M. A. Cunningham, B. Saigo.** *Environmental Science: A Global Concern.* 2005. 8th Edition. McGraw Hill.
- Cunningham, S. D., W. R. Berti.** *Remediation of contaminated soils with green plants: an overview.* 1993. *In Vitro Cell. Dev. Biol.* 29: 207 – 212.
- Curt Fernández, M. D.** *Fitodepuración en humedales. Conceptos generales.* 2005.
- Dragun, J.** *The soil chemistry of hazardous materials.* 1983. Amherst Scientific Publ., Amherst, MA.

- Dushenkov, S., Y. Kapulnik.** *Phytofiltration of metals. In: Phytoremediation of toxic metals. Using plants to clean-up the environment.* 2000. Ed. Raskin and Ensley. Pp. 89 – 106. Wiley, New York.
- Ernst, W. H. O.** *Revolution of metal hyperaccumulation and phytoremediation hype.* 2000. *New Phytol.* Vol. 146: 357 – 358.
- European Environment Agency.** *Europe's water: An indicator based assessment.* 2003. Topic Report No. 1/2003. Copenhagen.
- European Environment Agency.** *European environmental outlook.* 2005. Report No. 4/2005. Copenhagen.
- European Environment Agency.** *The European Environment: State and Outlook. Chapter 5: Freshwaters.* 2006. Pp. 112 – 132.
- Ferro A. M., S. A. Rock, J. Kennedy, J. J. Herrick, D. L. Turner.** *Phytoremediation of soils contaminated with wood preservatives: greenhouse and field evaluations.* 1999. *Int. J. Phytoremed.* 1:289–306
- Ferro A., J. Chard, R. Kjelgren, B. Chard, D. Turner, T. Montague.** *Groundwater capture using hybrid poplar trees: evaluation of a system in Ogden, Utah.* 2001. *Int. J. Phytoremed.* 3:87–104
- Fritioff, A., M. Greger.** *Aquatic and terrestrial plant species with potential to remove heavy metals from stormwater.* 2003. *International Journal of Phytoremediation.* 5(3): 211:224.
- Garver, E. G., D. R. Dubbe, D. C. Pratt.** *Seasonal patterns in accumulation and partitioning of biomass and macronutrients in Typha spp.* 1988. *Aquatic Botany.* 32(1-2): 115 -127.
- Gersberg, R. M., B. V. Elkins, S. R. Lyons, C. R. Goldman.** *Role of Aquatic Plants in Wastewater Treatment by Artificial Wetlands.* 1985. *Water Research,* 20:363-367.
- Glass D.J.** *Economic potential of phytoremediation. In: Phytoremediation of Toxic Metals — Using Plants to Clean Up the Environment.* 2000. Ed. Raskin, I., B.D. Ensley. Pp. 15–33. Wiley, New York.
- Glass D.J.** *U.S. and international markets for phytoremediation.* 1999–2000. Report, D. Glass Assoc. Inc., Needham, Massachusetts.
- Gopal, B.** *Perspectives on wetland science, application and policy.* 2003. *Hydrobiologia.* 490: 1 – 10.
- Grace J. B.** *Effects of Water Depth on Typha latifolia and Typha domingensis.* 1989. *American Journal of Botany.* Vol. 76. No. 5: 762 – 768.
- Hansen D., P. J. Duda, A. Zayed, N. Terry.** *Selenium removal by constructed wetlands: role of biological volatilization.* 1998. *Environ. Sci. Technol.* 32:591–97
- Henry, J. G., G. W. Heinkle.** *Ingeniería Ambiental.* 1999. 2^a ed. Pearson.

- Horne A. J.** *Phytoremediation by constructed wetlands. In Phytoremediation of Contaminated Soil and Water.* 2000. Ed. N Terry, G Bañuelos, pp. 13–40. Boca Raton: Lewis
- Institute of Food and Agricultural Sciences.** 1990. Centro para plantas acuáticas. Universidad de Florida, Gainesville.
- Kadlec, R. H., R. L. Knight.** *Treatment Wetlands.* 1996. Lewis Publisher: CRC Press, Boca Raton, FL.
- Kalff, J.** *Limnology.* 2002. Prentice Hall. Upper Saddle River, NJ.
- Kalin, M.** *Passive mine water treatment: the correct approach?* 2004. *Ecological Engineering*, 22(4-5):299-304.
- Keane B., S. Pelikan, G. Toth, M. K. Smith, S. H. Rogstad.** *Genetic diversity of Typha latifolia (Typhaceae) and the impact of pollutants examined with tandem repetitive and probes.* 1999. *American Journal of Botany*. 86: 1226 – 1228.
- Keon Blute, N., D. J. Brabander, H. F. Hemond, S. R. Sutton, M. G. Newville, M. L. Rivers.** *Arsenic sequestration by ferric iron plaque on cattail roots.* 2004. *Environ. Sci. Technol.* 38: 6074-6077.
- Kikuth, R.** *Degradation and incorporation of nutrients from rural wastewaters by plant rhizosphere under liminic conditions.* 1977. *Utilization of Manure by Land Spreading*, Comm. of the Europ. Communitite, EUR 5672e, London, 235-243.
- Knight, R. L., R. H. Kadlec, H. M. Ohlendorf.** *The use of treatment wetlands for petroleum industry effluents.* 1999. *Critical Review. Environmental Science and Technology.* Vol. 33. No. 7: 973 – 980.
- Koch, I., L. Wang, C. A. Ollson, W. R. Cullen, K. J. Reimer.** *The predominance of inorganic Arsenic species in plants from Yellowknife, Northwest Territories, Canada.* 2000. *Environ. Sci. Technol.* 34: 22-26.
- Kumar, G. P., M. N. V. Prasad.** *Cadmium adsorption and accumulation by Ceratophyllum demersum L.: a fresh water macrophyte.* 2004. *The European Journal of Mineral Processing and Environmental Protection.* Vol. 4, No. 2: 95-101.
- Kusch, P., A. Wiessner, S. Buddhawong, U. Stottmeister, M. Kastner.** *Effectiveness of differently designed small-scale constructed wetlands to decrease the acidity of acid mine drainage under field conditions.* 2006. *Engineering in life sciences*, (684):394-398.
- Lantzy, R.J., F.T. Mackenzie.** *Atmospheric Trace Metals: Global Cycles and Assessment of Man's Impact.* 1979. *Geochim. Cosmochim. Acta* 43: 511–525.
- Lara, B. J. A.** *Depuración de aguas residuales urbanas mediante humedales artificiales.* 1999.

Leura Vicencio, A. K. *Fitoextracción de una mezcla de Cd, Cr y As en solución por plantas de Typha latifolia (espadaña). Toxicidad y tolerancia.* 2009. Tesis para obtener el título de QFB. Facultad de Ciencias Químicas. UASLP.

Leyva Ramos, R., A. Jacobo, P. E. Díaz, R. M. Guerrero, J. Mendoza, M. S. Berber. *Adsorption of chromium (VI) from an aqueous solution on a surfactant-modified zeolite.* 2008. Colloids and surfaces, Physicochemical and engineering aspects. 330: 35 – 41.

Litz, J. E. *Hexavalent chromium removal from aqueous media using ferrous-form zeolite materials.* 2006. United States Patent.

Lytle, C. M., F. W. Lytle, N. Yang, J. Qian, D. Hansen, A. Zayed, N. Terry. *Reduction of Cr(VI) to Cr(III) by wetlands plants: potential for in situ heavy metal detoxification.* 1998. Environ. Sci. Technol. 32: 3087-3093.

Maddison, M., K. Soosaar, K. Lõhmus, Ü. Mander. *Cattail population in wastewater treatment wetlands in Estonia: biomass production, retention of nutrients, and heavy metals in phytomass.* 2005. Journal of Environmental Science and Health. 40: 1157 – 1166.

Makos, J. D., D. C. Hrcir. *Chemistry of Cr (VI) in a Constructed Wetland.* 1995. Environ. Sci. Technol. 29: 2414-2419.

Manios, T., E. I. Stentiford, P. A. Millner. *The effect of heavy metals accumulation on the chlorophyll concentration of Typha latifolia plants, growing in a substrate containing sewage sludge compost and watered with metaliferous water.* 2003. Ecological Engineering. 20: 65 – 74.

Manios, T., E.I. Stentiford, P. Millner. *Removal of heavy metals from a metaliferous water solution by Typha latifolia plants and sewage sludge compost.* 2003. Chemosphere, 53:487-494.

Manual de la Convención de Ramsar. *Guía a la Convención sobre los Humedales (Ramsar, Irán, 1971).* 2004. 3ª edición.

Marsilli-Libelli, S., N. Checci. *Identification of dynamic models for horizontal subsurface constructed wetlands.* 2005. Ecological Modelling. 187: 201 – 218.

Mattes, A., B. Duncan, D. Gould. *Biological Removal of arsenic in a multi-stage engineered wetlands treating a suite of heavy metals.* 2004.

Meagher, R. B., A.C.P. Heaton. *Strategies for the engineered phytoremediation of toxic element pollution: mercury and arsenic.* 2005. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 32(11-12):502-513.

Meharg, A. A., J. Hartley-Whitaker. *Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and nonresistant plant species.* 2002. New Phytologist. 154: 29 – 43.

Müllerová, H., O. Kruml, K. Vybíhal, J. Zeman, P. Müller. *Adsorption of copper and cadmium from aqueous solutions by various types of sediments under static and dynamic conditions.* 2003. Bulletin of Geosciences. 78(3): 169 – 178.

- Nelson, E. A., W. I. Specht, J. A. Bowers, J. B. Gladden.** *Constructed Wetland for removal of heavy metals for NPDES outfall effluent.* 2003. United States Department of Energy.
- Nriagu, J. O.** *Global Inventory of Natural and Anthropogenic Emissions of Trace Metals to the Atmosphere.* 1979. *Nature.* 279: 409–411.
- Nriagu, J. O.** *Arsenic in the environment: part 1 cycling and characterization.* 1994. New York, USA: Wiley, 430.
- Orozco, C. E., A. M. Cruz, M. A. Rodríguez, A. J. Pohlan.** *Humedal subsuperficial de flujo vertical como sistema de depuración terciaria en el proceso de beneficiado de café.* 2006. *Hig. Sanid. Ambiental.* (6): 190 – 196.
- Pecina Martínez, S.** *Remoción de Cd (II) y Cr (VI) en solución por plantas de Typha latifolia (Espadaña).* 2008. Tesis para obtener el título de QFB. Facultad de Ciencias Químicas, UASLP.
- Pilon-Smits, E.** *Phytoremediation.* 2005. *Annu. Rev. Plant Biol.* 56: 15 – 39.
- Pilon-Smits, E., M. Pilon.** *Phytoremediation of metals using transgenic plants.* 2002. *Critical Reviews in Plant Science.* 21(5): 439 – 456.
- Prasad, M. N. V.** *Phytoremediation of Metal-Polluted Ecosystems: Hype for Commercialization.* 2003. *Russian Journal of Plant Physiology.* Vol. 50, No. 5, pp. 686–700.
- Pucci, B.** *Constructed wetlands.* 2003. Agencia Regional para la Protección Ambiental de la Toscana. Italia.
- Raskin, I., B. D. Ensley.** *Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment.* 2000. New York: Wiley-Interscience. Pp. 1 – 304.
- Raskin, I., P. Kumar, S. Dushenkov, D. E. Salt.** *Bioconcentration of heavy metals by plants.* 1994. *Curr. Opin. Biotechnol.* 5: 285 – 290.
- Riechman, M. S.** *The responses of plants to metal toxicity: a review focusing on copper, manganese and zinc.* 2002. Australian Minerals and Energy Environment Foundation.
- Rieuwerts, J. S., I. Thonton, M. E. Farago, M. R. Ashmore.** *Factors influencing metals bioavailability in soils: preliminary investigations for the development of a critical loads approach for metals.* 1998. *Chemical Speciation and Bioavailability,* 10 (2): 61 – 75.
- Rivetta A., N. Negrini, M. Cocucci.** *Involvement of Ca²⁺-calmodulin in Cd²⁺ toxicity during the early phases of radish (Raphanus sativus L.) seed germination.* 1997. *Plant Cell Environ.* 20, 600–608.
- Rock, S.** *A field evaluation of phytotechnologies. In Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants.* 2003. Ed. S. C. McCutcheon, J. L. Schnoor, pp. 905–24. New York: Wiley

- Ross, S.M.** *Toxic Metals in Soil-Plant Systems*. 1994. Wiley, Chichester, U.K.
- Salt, D. E., R. D. Smith, I. Raskin.** *Phytoremediation*. 1998. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49: 643 – 668.
- Seidel, K.** *Reinigung von Gewässern durch höhere Pflanzen*. 1966. *Deutsche Naturwissenschaft*, 12:298-297. Citado en: United States Environmental Protection Agency. *Subsurface flow constructed wetlands for wastewater treatment: a technology assessment*. 1993.
- Silviera, M. L. A., L. R. F. Alleoni, L. R. G. Guilherme.** *Biosolids and heavy metals in soils*. 2003. *Scientia Agricola*. 60 (4): 793 – 804.
- Smith, G.S.** "*Typhaceae*". 2009. En: *Flora of North America Vol. 22*. Oxford University Press. Online at: www.EFloras.org.
- Stein, O. R., P. B. Hook.** *Temperature, plants, and oxygen: how does season affect constructed wetland performance?* 2005. *Journal of Environmental Science and Health*. 40: 1331 – 1342.
- Stohs, S.J., D. Bagchi.** *Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions*. 1995. *Free Rad. Biol. Med.*, 18: 321 – 336.
- Streit, N. M., L. P. Canterle, M. Weber, L. H. Hycheki.** *The Chlorophylls*. 2005. *Ciencia Rural, Santa María*. 35(3): 748 – 755.
- Suliman, F., C. Futsaether, U. Oxaal.** *Hydraulic performance of horizontal subsurface flow constructed wetlands for different strategies of filling the filter medium into the filter basin*. 2007. *Ecological Engineering*. 29(1): 45 – 55.
- Takashi, M.** *Adsorption of trivalent chromium in aqueous solution using natural zeolite*. 2008. Bachelor Thesis. Department of International Development Engineering, Tokyo Institute of Technology.
- Tu, C., L. Q. Ma.** *Effects of Arsenic concentrations and forms on arsenic uptake by the hyperaccumulator ladder brake*. 2002. *J. Environ. Qual.* 31: 641 – 647.
- Turpeinen, R., M. Pansar-Kallio, M. Haggblom, T. Kairesalo.** *Influence of microbes on the mobilization, toxicity and biomethylation of arsenic in soil*. 1999. *Science of the Total Environment*. 236: 173–180.
- United States Environmental Protection Agency (a).** *List of Drinking Water Contaminants and their MCLs*. 2008.. <http://www.epa.gov/safewater/contaminants/index.html>.
- United States Environmental Protection Agency (b).** *Emerging technologies for wastewater treatment and in-plant wet weather management*. 2008. Parsons Corporation.
- United States Environmental Protection Agency (c).** *Municipal Technologies*. 2008. www.epa.gov.

- United States Environmental Protection Agency.** *Subsurface flow constructed wetlands for wastewater treatment: a technology assessment.* 1993.
- United States Environmental Protection Agency.** *A Handbook of Constructed Wetlands: a guide to creating wetlands for agricultural wastewater, domestic wastewater, coal mine drainage, stormwater in the Mid-Atlantic Region.* 1998.
- United States Environmental Protection Agency.** *Free water surface wetlands for wastewater treatment: a technology assessment.* 1999.
- United States Environmental Protection Agency.** *Publication 542-B-99-003.* 1999. Phytoremediation resource guide.
- United States Environmental Protection Agency.** *Technical Factsheet on: Cadmium. In: National Primary Drinking Water Regulations.* 2009.
- Van Assche F., H. Clijsters.** *Inhibition of photosynthesis in Phaseolus vulgaris by treatment with toxic concentration of zinc: effect on ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase.* 1986. *J. Plant Physiol.* 25:355–360.
- Volke Sepúlveda, T. L., J. A. Velasco, D. A. de la Rosa, G. Solórzano.** *Evaluación de Tecnologías de Remediación para Suelos Contaminados con Metales.* 2004. Semarnat.
- Vymazal, J.** *Removal of heavy metals in a horizontal sub-surface flow constructed wetland.* 2005. *Journal of Environmental Science and Health.* 40: 1369 – 1379.
- Weiss, J., M. Hondzo, D. Biesboer, M. Semmens.** *Laboratory study of heavy metal phytoremediation by three wetland macrophytes.* 2006. *International Journal of Phytoremediation.* 8: 245 – 259.
- Williams, J. B.** *Phytoremediation in Wetland Ecosystems: Progress, problems and potential.* 2002. *Critical Reviews in Plant Sciences.* 21(6): 607 – 635.
- Winter Sydnor M. E., E. F. Redente.** *Reclamation of high-elevation, acidic mine waste with organic amendments and topsoil.* 2002. *J. Environ. Qual.* 31:1528–37
- Wolverton, B. C., R. C. McDonald, W. R. Duffer.** *Microorganisms and Higher Plants for Wastewater Treatment.* 1983. *J. Environmental Quality,* 12(2): 236-242.
- Xu S., P. R. Jaffé.** *Effects of plants on the removal of hexavalent chromium in wetland sediments.* 2006. *J. Environ. Qual.* 35: 334 – 341.
- Ye, Z. H., A. J. M. Baker, M. H. Wong, A. J. Willis.** *Zinc, lead and cadmium tolerance, uptake and accumulation by Typha latifolia.* 1997. *New Phytol.* 136: 469 – 480.
- Ye, Z. H., S. N. Whiting, Z. Q. Lin, C. M. Lytle, J. H. Quian, N. Terry.** *Removal and distribution of iron, manganese, cobalt and nickel within a Pennsylvania constructed wetland treating coal combustion by-product leachate.* 2001. *J. Environ. Qual.* 30: 1464 – 1473.