Casa abierta al tiempo
Universidad Autónoma Metropolitana
Azcapotzalco

MCIA
Maestría en Ciencias e Ingeniería Ambientales

División de Ciencias Básicas e Ingeniería

Maestría en Ciencias e Ingeniería Ambientales

"Fitoextracción de arsénico, cadmio y cobre, mediante las especies *Eichhornia crassipes*, *Myriophyllum aquaticum* y *Wolffia columbiana* en un humedal artificial"

Presenta:

Ing. Jessica Islas Olvera

Asesoras:

Dra. Mabel Vaca Mier
UAM-A, Dpto. de Energía

Dra. María Neftalí Rojas Valencia
UNAM, Instituto de Ingeniería

Enero 2020, Ciudad de México

Resumen

En este trabajo se estudió el proceso de remoción de arsénico, cadmio y cobre, de agua residual industrial cuyas concentraciones se encontraban por arriba de los límites máximos permisibles que establece la normativa mexicana, mediante el proceso de fitoextracción. Se realizaron tres experimentaciones: (1) mezcla de contaminantes en medio neutro, (2) mezcla de contaminantes en medio ácido y (3) contaminantes sin estar en mezcla en medio neutro.

La fitoextracción se realizó mediante la implementación de un humedal artificial utilizando las plantas acuáticas: lirio acuático (*Eichhornia crassipes*), sirena (*Myriophyllum aquaticum*) y lentejuela (*Wolffia columbiana*). Se determinó su potencial como plantas fitoextractoras mediante el factor de bioconcentración, el cual indicó que en cadmio y cobre las especies resultaron hiperacumuladoras (porque su concentración superó el 0.1 % en biomasa seca) y sólo son acumuladoras de arsénico.

También se estudió la cinética de fitoextracción de arsénico y cadmio, logrando obtener los parámetros del modelo de Michaelis-Menten, destacando la velocidad máxima de remoción para *Eichhornia crassipes* (1.021 mg As kg^{-1} h^{-1}), *Myriophyllum aquaticum* (0.080 mg As kg^{-1} h^{-1}; 0.616 mg Cd kg^{-1} h^{-1}) y *Wolffia columbiana* (0.666 mg As kg^{-1} h^{-1}; 1428 mg Cd kg^{-1} h^{-1}), necesarios para la predicción del tiempo y la velocidad de remoción de estos contaminantes en cuerpos de agua con diferentes concentraciones, así como la biomasa necesaria para la restauración.

Abstract

This research focused on the process of removal of arsenic, cadmium and copper, from wastewater, in concentrations which are above the maximum permissible limits established by Mexican regulations, using phytoextractor plants. Three experiments were carried out using: (1) mixture of contaminants in neutral medium, (2) mixture of contaminants in acid medium and (3) contaminants alone in neutral medium.

The phytoextraction process was carried out by means of the implementation of an artificial wetland using aquatic lily (*Eichhornia crassipes*), mermaid (*Myriophyllum aquaticum*) and sequin (*Wolffia columbiana*). Their potential as phytoextractor plants was determined by means of the bioconcentration factor, which indicated that for cadmium and copper the species were hyperaccumulators (because their extracted concentration exceeded 0.1% in dry biomass) and they were only classified as arsenic accumulators.

The kinetics of phytoextraction of arsenic and cadmium were also studied, obtaining the parameters of the Michaelis-Menten model, the maximum removal rate for *Eichhornia crassipes* (1.021 mg As kg^{-1} h^{-1}), *Myriophyllum aquaticum* (0.080 mg As kg^{-1} h^{-1}; 0.616 mg Cd kg^{-1} h^{-1}) and *Wolffia columbiana* (0.666 mg As kg^{-1} h^{-1}; 1428 mg Cd kg^{-1} h^{-1}) were obtained. These parameters are useful for the prediction of time and velocity of removal of these pollutants in water bodies with different concentrations, as well as calculation of the biomass necessary for restoration.

Dedicatoria

A Dios

Te doy gracias, Dios, por darme vida y salud para cumplir este logro, así como las fuerzas para nunca desistir y que siempre estuviste a mi lado.

A mi querida hija Hannia y querido Miguel

A ti en especial mi pequeña te dedico este proyecto al igual que todos mis triunfos ya que eres la luz de mi vida, la persona que me da el aliento para continuar y dar lo mejor de mí. Mi amado Miguel agradezco el tiempo que estuviste a mi lado apoyándome incondicionalmente, con tu cariño y amor, así mismo tus enseñanzas y consejos.

A mis Padres Fabiola Olvera y Javier Islas

Ustedes son mi admiración para ser mejor persona y quienes me enseñaron a esforzarme por cumplir mis sueños.

Agradezco que sean mis padres, los mejores padres del mundo ya que siempre me brindaron todo su apoyo y cariño.

Agradecimientos

Quiero agradecer al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por la beca otorgada durante mis estudios de maestría.

A la **Universidad Autónoma Metropolitana**, por permitirme una vez más pertenecer a esta casa de estudios donde desarrollé capacidades científicas, intelectuales y sociales, así mismo por haberme proporcionado todas sus instalaciones.

Al **Posgrado en Ciencias e Ingeniería Ambiental** por haber confiado en mí para estudiar esta maestría. Así mismo agradezco a cada uno de los profesores que me transmitieron sus conocimientos tan valiosos para mi desarrollo profesional.

Al **Laboratorio de la Calidad del Agua y Residuos de la UAM-A** y a las personas pertenecientes por el apoyo y experiencia brindado.

Quiero agradecer especialmente a mis asesoras la **Dra. Mabel Vaca Mier** y a la **Dra. Neftalí Rojas Valencia** por otorgarme la oportunidad de llevar a cabo mi tesis a su lado, brindándome todo su apoyo, nuevos conocimientos y su experiencia profesional para el desarrollo de mi proyecto y en mi formación como investigadora.

Al **Dr. José Ángel Dávila Gómez** por ser guía hacia el camino del ámbito ambiental y bridarme todo su apoyo y comprensión en la realización de esta maestría.

Al **Dr. Adolfo Hernández Moreno** por sus asesorías y apoyo a lo largo de mis estudios y en el modelo ambiental empleado.

A la **Ing. Silvia Martínez** por toda su ayuda y conocimientos brindados durante la experimentación en el laboratorio.

A mis amigas **Selene**, **Adriana** y **Tania**, y mi amigo **Diego** por su amistad brindada y su ayuda a lo largo de esta maestría.

Contenido

Resumen ii

Abstract iii

Dedicatoria iv

Agradecimientos v

Contenido vi

Índice de Figuras ix

Índice de Tablas xi

Capítulo 1

Introducción 1

Capítulo 2

Objetivos e Hipótesis 4

Objetivo General 5

Objetivos Específicos 5

Hipótesis 5

Capítulo 3

Estado del Arte 6

Metales pesados 8

Arsénico 9

Cadmio 11

Cobre 11

Contaminación del agua 12

Fitorremediación 13

Mecanismo de reacción 17
Cinética de fitoextracción 20
Especies vegetales 21
Lirio acuático *(Eichhornia crassippes)* 21
Sirena *(Myriophyllum aquaticum)* 24
Lentejuela *(Wolffia columbiana)* 26
Humedales 28
Normatividad mexicana 30

Capítulo 4
Desarrollo Experimental 32
Especies vegetales 33
Diseño experimental 36
Análisis de metales 38

Capítulo 5
Resultados 39
Biomasa 40
Cuantificación de metales 43
Concentración de metales en el agua 43
Concentración de metales en el tejido vegetal 57
Resultado del balance de masa 69
Cinética de fitoextracción 73

Capítulo 6
Conclusiones y Recomendaciones 78
Conclusiones 79
Recomendaciones 81

Capítulo 7
Referencias 82

Apéndice 96
Análisis Estadístico 97
Influencia de la cantidad de biomasa 97
Comparación del pH (medios neutro y ácido) 100
Comparación de los contaminantes, en mezcla y solos 103
Efecto de la acumulación de los contaminantes en las especies *Myriophyllum aquaticum* y *Wolffia columbiana* con respecto al control *Eichhornia crassipes* . 106
Análisis del modelo de Michaelis-Menten 109

Anexos 111
Métodos analíticos detallados 112
Cuantificación de metales en el agua 112
Cuantificación de metales en el tejido vegetal 114

Índice de Figuras

Figura 1. Fuentes naturales y antropogénicas de metales tóxicos 8

Figura 2. Principales procesos de acumulación de metales en las plantas 17

Figura 3. Especie *Eichhornia crassipes* 22

Figura 4. Morfología de *Eichhornia crassipes* 22

Figura 5. Especie *Myriophyllum aquaticum* 24

Figura 6. Morfología de *Myriophyllum aquaticum* 24

Figura 7. Especie *Wolffia columbiana* 26

Figura 8. Amanal de Otumba 33

Figura 9. Embarcadero de Nativitas 34

Figura 10. Invernadero del Laboratorio de Calidad del Agua y Residuos 34

Figura 11. Espectrofotómetro SpectrAA-200 38

Figura 12. Microondas MARS-X 38

Figura 13. Biomasa de *Eichhornia crassipes* al final de cada experimentación 40

Figura 14. Biomasa de *Myriophyllum aquaticum* al final de cada experimentación 41

Figura 15. Biomasa de *Wolffia columbiana* al final de cada experimentación 42

Figura 16. Remoción de arsénico en el agua mediante las tres especies vegetales, a) concentración inicial de 2.42 mg/L (alta concentración) y b) concentración inicial de 1.43 mg/L (baja concentración). 44

Figura 17. Remoción de cadmio en el agua mediante las tres especies vegetales, a) concentración inicial de 2.05 mg/L (alta concentración) y b) concentración inicial de 0.99 mg/L (baja concentración). 46

Figura 18. Remoción de cobre en el agua mediante las tres especies vegetales, a) concentración inicial de 26.58 mg/L (alta concentración) y b) concentración inicial de 19.39 mg/L (baja concentración). 48

Figura 19. Remoción de arsénico en el agua en un pH ácido, mediante las tres especies vegetales 50

Figura 20. Remoción de cadmio en el agua en un pH ácido, mediante las tres especies vegetales 51

Figura 21. Remoción de cobre en el agua en un pH ácido, mediante las tres especies vegetales 51

Figura 22. Remoción de arsénico sin estar en mezcla, mediante las tres especies vegetales 53

Figura 23. Remoción de cadmio sin estar en mezcla, mediante las tres especies vegetales 54

Figura 24. Remoción de cobre sin estar en mezcla, mediante las tres especies vegetales 55

Figura 25. Balance de masa de cobre en *Eichhornia crassipes* estando a pH neutro y mezcla de contaminantes 69

Figura 26. Balance de masa de arsénico en *Eichhornia crassipes* estando a pH neutro y mezcla de contaminantes 70

Figura 27. Balance de masa de cadmio en *Wolffia columbiana* estando a pH ácido y mezcla de contaminantes 71

Figura 28. Balance de masa de cadmio en *Myriophyllum aquaticum* estando a pH neutro y cadmio solo 72

Figura 29. Cinética de fitoextracción en *Eichhornia crassipes* de cadmio 73

Figura 30. Cinética de fitoextracción en *Myriophyllum aquaticum* de a) arsénico y b) cadmio 74

Figura 31. Cinética de fitoextracción en *Wolffia columbiana* de a) arsénico y b) cadmio 75

Figura 32. Análisis de varianza de la cantidad de biomasa en la experimentación de arsénico 98

Figura 33. Análisis de varianza de la cantidad de biomasa en la experimentación de cadmio 99

Figura 34. Análisis de varianza de la cantidad de biomasa en la experimentación de cobre 100

Figura 35. Análisis de varianza del factor pH en la experimentación de arsénico con *Eichhornia crassipes* 101

Figura 36. Análisis de varianza del factor pH en la experimentación de cadmio con *Wolffia columbiana* 104

Figura 37. Prueba Dunnett para la experimentación de cadmio en mezcla 107

Índice de Tablas

Tabla 1. Clasificación de los contaminantes en los recursos hídricos 12

Tabla 2. Procesos de la fitorremediación 16

Tabla 3. Ventajas y desventajas de la fitorremediación 16

Tabla 4. Trabajos relacionados con la fitoextracción de contaminantes 27

Tabla 5. Límites máximos permisibles en descargas de aguas 30

Tabla 6. Límites máximos permisibles para los constituyentes tóxicos en el extracto PECT 31

Tabla 7. Diseño de experimentos con mezcla de As, Cd y Cu a pH neutro 36

Tabla 8. Diseño de experimentos con mezcla de As, Cd y Cu en medio ácido 37

Tabla 9. Diseño de experimentos sin estar mezclados el As, Cd y Cu, a pH neutro 37

Tabla 10. Resumen de las eficiencias máximas obtenidas en la fitoextracción de arsénico, cadmio y cobre 56

Tabla 11. Concentración, FBC y FT de arsénico, cadmio y cobre en las especies vegetales, al estar los contaminantes en mezcla y a pH neutro 58

Tabla 12. Concentración, FBC y FT de arsénico, cadmio y cobre, de las especies vegetales a pH ácido 61

Tabla 13. Concentración, FBC y FT de arsénico en la parte aérea y raíz de las especies vegetales 63

Tabla 14. Concentración, FBC y FT de cadmio en la parte aérea y raíz de las especies vegetales 65

Tabla 15. Concentración, FBC y FT de cobre en la parte aérea y raíz de las especies vegetales 67

Tabla 16. Parámetros de la cinética de fitoextracción 76

Tabla 17. Experimentaciones analizadas estadísticamente 97

Tabla 18. Resultados del análisis de varianza para determinar el efecto del pH en la remoción de arsénico 102

Tabla 19. Resultados del análisis de varianza para determinar el efecto del pH en la remoción de cadmio 102

Tabla 20. Resultados del análisis de varianza para determinar el efecto del pH en la remoción de cobre 102

Tabla 21. Resultados del análisis de varianza para determinar el efecto de los contaminantes en mezcla o solos en la remoción de arsénico 105

Tabla 22. Resultados del análisis de varianza para determinar el efecto de los contaminantes en mezcla o solos en la remoción de cadmio 105

Tabla 23. Resultados del análisis de varianza para determinar el efecto de los contaminantes en mezcla o solos en la remoción de cobre 106

Tabla 24. Resultados de la prueba Dunnett para la acumulación de arsénico 107

Tabla 25. Resultados de la prueba Dunnett para la acumulación de cadmio 108

Tabla 26. Resultados de la prueba Dunnett para la acumulación de cobre 108

Tabla 27. Análisis del modelo de Michaelis-Menten 109

Tabla 28. Variables del modelo de Michaelis-Menten en la fitoextracción de cadmio mediante *Wolffia columbiana* 110

Capítulo 1

Introducción

La contaminación por metales pesados en la naturaleza ha provocado serios problemas ambientales debido a su alta toxicidad, persistencia y naturaleza bioacumulativa (Zheng *et al*., 2018).

El cadmio, el plomo, el mercurio, y el arsénico son nocivos para la salud humana a muy bajas concentraciones en todas sus formas, considerando que el cobre puede ser tóxico en altas concentraciones (Afonso *et al.,* 2017). Estos metales pesados se encuentran naturalmente en la corteza terrestre, pero debido a las actividades basadas en la tecnología, prácticas industriales o agrícolas, han provocado cambios drásticos en sus ciclos geoquímicos (Rehman *et al*., 2018).

El arsénico daña los sistemas: dérmico, gastrointestinal, hepático, neurológico y respiratorio, se ha determinado que la exposición máxima de arsénico deber ser de 0.01 mg/L (ATSDR, 2007). El cadmio puede afectar los sistemas: cardiovascular, del desarrollo, gastrointestinal, neurológico, renal, reproductivo y respiratorio, la exposición máxima de cadmio está reportada como 0.005 mg/L (ATSDR, 2012). El cobre daña a los sistemas: gastrointestinal, hematológico y hepático, con una exposición máxima de 1.3 mg/L (ATSDR, 2004).

En este proyecto se utilizó agua residual industrial que estaba contaminada con arsénico, cadmio y cobre, fue tratada con una "tecnología limpia" que tiene un costo relativamente bajo y es un proceso sustentable, la fitorremediación en donde las plantas se usan para absorber contaminantes del agua (Ali *et al*., 2013). Dentro de los procesos de la fitorremediación el más utilizado es la fitoextracción que consiste en la captación de contaminantes inorgánicos, principalmente metales a través de las raíces de plantas y su translocación dentro de los órganos superiores (Yang *et al*., 2017).

Es deseable que las plantas empleadas en la fitorremediación sean nativas y tengan una rápida tasa de crecimiento, un extenso sistema radical, un alto rendimiento de biomasa, adaptación a diferentes hábitats, alta tolerancia a los contaminantes y capacidad de acumulación (Valipour y Ahn, 2016), como las usadas en este estudio: *Eichhornia crassipes*, *Myriophyllum aquaticum* y *Wolffia columbiana*. Estas especies son plantas acuáticas que completan su ciclo biológico cuando todas sus partes se encuentran sumergidas o flotando en la superficie del agua.

Las plantas realizaron el proceso de fitoextracción en humedales artificiales ya que éstos están diseñados para simular humedales naturales (Xu *et al*., 2018).

Un humedal artificial es una tecnología de tratamiento ecológico, aplicada para mejorar con éxito la calidad de las aguas y aguas residuales y son conocidos por la eliminación de compuestos orgánicos, sólidos suspendidos, nutrientes, bacterias y metales pesados (Huang *et al*., 2017).

En este proyecto de investigación se estudió el proceso de fitoextracción de arsénico, cadmio y cobre en agua residual. Se estableció la cinética de fitoextracción de los contaminantes para determinar la capacidad fitoextractora de las plantas acuáticas *Eichhornia crassipes, Myriophyllum aquaticum* y *Wolffia columbiana*, y su potencial de remediación en cuerpos de agua contaminados.

La experimentación se llevó a cabo en el Laboratorio de Calidad de Agua y Residuos de la UAM-A.

Capítulo 2

Objetivos e Hipótesis

Objetivo General

Evaluar la eficiencia de un proceso de fitoextracción en un humedal artificial para remover arsénico, cadmio y cobre de agua residual industrial.

Objetivos Específicos

- Evaluar la eficiencia en la remoción de metales mediante fitoextracción en el humedal empleando lirio acuático (*Eichhornia crassipes*), sirena (*Myriophyllum aquaticum*) y lentejuela (*Wolffia columbiana*).
- Resolver el balance de masa para arsénico, cadmio y cobre en el humedal.
- Evaluar la influencia de las condiciones del humedal (tiempo de contacto, pH y concentración de contaminantes) en la separación de metales pesados del agua y la generación de biomasa.

Hipótesis

Empleando el proceso de fitoextracción en un humedal artificial con agua residual, se puede remover arsénico, cadmio y cobre con una alta eficiencia.

Capítulo 3

Estado del Arte

Eichhornia crassipes ha sido ampliamente utilizada en fitorremediación por su capacidad de absorber contaminantes del agua como cadmio, plomo, cobre, zinc, mercurio (Sadasivan y Tharayil, 2017; Sricoth *et al*., 2018). Por lo general se ha aplicado en la construcción de humedales para mejorar la calidad del agua debido a su tasa de crecimiento y generación de biomasa (Eid *et al*., 2019), adaptación a una amplia gama de condiciones ambientales (Eid y Shaltout, 2017; Saraswat y Rai, 2010), y una excelente capacidad para acumular metales en sus órganos (Xiaomei *et al.,* 2004; Romero-Hernández *et al.,* 2017).

Myriophyllum aquaticum también es una planta recomendada en estudios ecológicos como biomonitores en la calidad del agua, por su capacidad de acumular zinc, plomo, cromo, níquel, entre otros metales (Ngayila *et al.,* 2007; Harguinteguy *et al.,* 2013), y como una especie fitoacumuladora por su alta capacidad de retención de contaminantes en su tejido vegetal *(*Harguinteguy *et al*., 2015; Romero-Hernández *et al*., 2017; Colzi *et al*., 2018; Lu *et al*., 2018*).*

Wolffia tiene una alta tasa de crecimiento y un potencial para absorber grandes cantidades de contaminantes (Hillman y Culley, 1978), lo que la convierten en un excelente candidato para la fitorremediación de metales pesados (Xie *et al*., 2013). Sin embargo, hasta ahora hay pocos estudios sobre la absorción, acumulación, tolerancia y capacidad de fitorremediación de *Wolffia columbiana,* aunque se ha reportado el uso con éxito de otras especies pertenecientes a la familia *Wolffia,* en la absorción de cadmio, cromo y arsénico (Boonyapookana *et al.,* 2002; Zhang *et al.,* 2009; Srivastava *et al.,* 2014).

Metales pesados

Los metales pesados son contaminantes muy tóxicos, que se pueden encontrar en los depósitos de agua, la atmósfera o el suelo, en exceso debido a diversas acciones antropogénicas y a la urbanización.

También es importante tener en cuenta las fuentes naturales de contaminación por metales pesados, que incluyen todos los tipos de rocas que, a través de sus interacciones con el medio ambiente circundante transportan y redistribuyen los metales pesados (Kobielska *et al.*, 2018). Los niveles excesivos de muchos metales pueden afectar la calidad del suelo, el rendimiento de los cultivos y los productos agrícolas, y pueden ser peligrosos a la salud humana, animal y del ambiente (Kobielska *et al.*, 2018). En la Figura 1 se muestran las fuentes naturales y antropogénicas de metales tóxicos (Ali *et al.*, 2017).

Figura 1. Fuentes naturales y antropogénicas de metales tóxicos

Fuente: Ali *et al.*, 2017.

Algunos factores que contribuyen al estado de oxidación y concentración de metales pesados en aguas superficiales incluyen influencias biológicas, químicas y físicas tales como organismos vivos, adsorción de sedimentos, materia orgánica e inorgánica, dilución y evaporación, pH y finalmente temperatura. Los metales pesados transportados por el agua pueden ser adsorbidos por la vegetación acuática como las algas, introduciéndolos en la cadena trófica, esto conduce a la bioconcentración dentro de organismos vivos, causando toxicidad y daño.

La biodisponibilidad y la toxicidad de un elemento, depende principalmente de su estado de oxidación (Jain y Ali, 2000).

Los metales o metaloides incluyendo arsénico (As), cadmio (Cd), cromo (Cr), cobre (Cu), plomo (Pb), mercurio (Hg), níquel (Ni), selenio (Se), plata (Ag) y zinc (Zn) son tóxicos para los organismos vivos incluso en niveles de baja concentración, debido a su persistencia, naturaleza no biodegradable, alta densidad (mayor a 5 g/cm^3) y su introducción en la cadena trófica, estos contaminantes pueden representar una amenaza letal para la vida y el medio ambiente (Ali *et al.,* 2017).

Arsénico

El arsénico es un metaloide, que tiene algunas de las propiedades de un metal. Es un componente de la corteza terrestre, generalmente se encuentra en pequeñas cantidades en todas las rocas, el suelo, el agua y el aire.

El arsénico puede existir en muchas formas químicas, debido a que es altamente reactivo y se encuentra en los estados de oxidación -3, 0, +3 y +5. En aguas naturales, está presente arsénico, como arsenito AsO_3^{-3} y arseniato AsO_4^{-3}, denominado As (III) y As (V), respectivamente. El As (III) existe principalmente en las aguas subterráneas y aguas hidrotermales, mientras que As (V) está más presente en las aguas superficiales (Lizama *et al*., 2011).

En el medio ambiente, el arsénico se combina con oxígeno, cloro y azufre para formar compuestos de arsénico inorgánico. El arsénico en los animales y las plantas se combina con el carbono y el hidrógeno para formar compuestos orgánicos de arsénico. Los principales factores que controlan la especiación de arsénico son el estado de oxidación, pH y la presencia de otras especies químicas.

La toxicidad del arsénico está relacionada con su estado de oxidación, la toxicidad de As (III) es mayor que la de As (V), es decir, el arsenito es significativamente más tóxico que el arseniato (Berman, 1980; Jain y Ali, 2000).

Es posible que sea más difícil eliminar el arsenito que el arseniato, debido a que en aguas naturales en condiciones normales de pH (6 a 9), el arsenito se encuentra principalmente como una especie sin carga (H_3AsO_3). Por otro lado, el arseniato se encuentra como especies cargadas negativamente ($H_2AsO_4^-$ y $H_2AsO_4^{-2}$), y son más fáciles de remover que especies sin carga, porque los oxianiones As (V) se pueden sorber, intercambiar iónicamente o precipitar/coprecipitar (Henken y Hutchison, 2009).

Si un ser humano ingiere una gran cantidad de arsénico, puede sufrir un envenenamiento rápido y provocar la muerte. El intestino, el corazón y el sistema nervioso se dañan por la exposición. La exposición a niveles más bajos puede causar náuseas y vómitos, disminución de la producción de glóbulos rojos y blancos, ritmo cardíaco anormal, daño a los vasos sanguíneos y sensación de "alfileres y agujas" en manos y pies. Una exposición a largo plazo a altos niveles de arsénico en el agua puede causar un engrosamiento de la piel o su pigmentación, así como cáncer de piel, vejiga o riñón. La exposición en el lugar de trabajo, sobre todo a través de la inhalación de aire, puede causar cáncer de pulmón (ATSDR, 2007).

Arsénico en las plantas

En el caso de arsénico, la vía principal de absorción de As (V) es a través del portador de fosfato y el As (III) utiliza acuaporinas (una clase de proteínas que forman poros en la membrana celular de las plantas). El arseniato tiene una estructura similar a la del fósforo y es absorbido por las células de la raíz a través de transportadores de fosfato, lo que favorece la absorción en la planta, en contraste, el arsenito es absorbido por acuaporinas, sin embargo, ingresa como una sustancia extraña para la planta, resultando más tóxico (Leão *et al*., 2014; Wang *et al*., 2002). El As (III) se oxida a As (V) en la planta (Meharg y Hartley-Whitaker, 2002).

Cadmio

El cadmio es un elemento natural en la corteza terrestre, por lo general no se encuentra en el medio ambiente como metal puro, sino que está asociado a minerales de zinc, plomo y cobre.

El cadmio entra en el suelo, el agua y el aire debido a la minería, la industria, y la quema de carbón y residuos domésticos. Es un metal pesado no esencial, es decir, sin alguna función biológica. El cadmio tiende a bioacumularse tanto en ecosistemas acuáticos como terrestres, a través de órganos como el riñón y el hígado. Respirar altos niveles de cadmio puede dañar gravemente los pulmones. El estómago se irrita al ingerir altos niveles de cadmio, provocando vómito y diarrea. La exposición a largo plazo a niveles más bajos conduce a una acumulación de cadmio en los riñones y una posible enfermedad renal, también puede causar daños a los pulmones y huesos (ATSDR, 2012). El cadmio puede almacenarse en el hígado, riñones, corazón, pulmones, glándulas salivales y próstata, debido a su alta afinidad con metalotioneína (Joseph, 2009). Hasta ahora no hay evidencia de su esencialidad en el crecimiento de las plantas (Xie *et al.,* 2013).

Cobre

El cobre es un elemento esencial en plantas y animales (incluidos los humanos), a muy bajas concentraciones. El cobre se libera al medio ambiente mediante la minería, la agricultura y las operaciones de manufactura y a través de las descargas de aguas residuales en los ríos y lagos. También es introducido por fuentes naturales, como volcanes, polvos arrastrados por el viento, vegetación en descomposición e incendios forestales.

Respirar altos niveles de cobre causa irritación en la nariz y la garganta. Ingerir altos niveles de cobre puede ocasionar náuseas, vómito y diarrea e incluso ocasionar daños al hígado y los riñones, así como causar la muerte (ATSDR, 2004).

Cobre en las plantas

El cobre es un componente de ciertas enzimas en las plantas, que incluyen el ácido ascórbico y tirosinasa. Las plantas necesitan cantidades muy pequeñas ya que puede ser tóxico, sin embargo, la deficiencia de cobre causa varios grados de deformidad del tallo, clorosis intervenal, matizado de hojas, desfoliación y muerte de brotes terminales (Pallardy, 2010).

Contaminación del agua

Las aguas residuales son las aguas de composición variada provenientes de las descargas de usos público urbano, doméstico, industrial, comercial, de servicios, agrícola, pecuario, de las plantas de tratamiento y en general, de cualquier uso, así como la mezcla de ellas (DOF, 1996)

Un contaminante del agua se define como cualquier agente físico, químico o materia biológica o radiológica que pueda alterar la calidad del agua, esto se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Clasificación de los contaminantes en los recursos hídricos

Contaminante	Descripción	Ejemplo
Biológico	Éstos son organismos presentes en el agua. Alternativamente, también se les conoce como microbios o contaminantes microbiológicos.	Bacterias, virus, protozoos y otros parásitos.
Físico	Afectan principalmente el aspecto físico u otras propiedades físicas del agua (por ejemplo, color, olor y pH).	Sedimento o materia orgánica suspendida en fuentes de agua superficial como lagos, ríos y arroyos de la erosión del suelo.
Químico	Son elementos y compuestos que son naturales o hechos por el hombre.	Metales, sales, nitrógeno, pesticidas, animales o humanos. Drogas y toxinas producidas por plantas, bacterias, hongos y algas.
Radiológico	El grupo representa elementos químicos con número desequilibrado de protones y neutrones que dan como resultado átomos inestables que pueden liberar radiación (por ejemplo, alfa, gamma, y beta).	Cesio, uranio, plutonio y americio.

Fuente: Kamusoko y Jingura, 2017.

Los avances tecnológicos en los sectores industrial, municipal y agrícola están introduciendo nuevos contaminantes en el agua, se estima que en la actualidad más de un millón de sustancias diferentes se descargan a aguas de uso antropogénico (Copaja *et al.*, 2016).

En ambientes acuáticos, los metales pesados tienden a combinarse con minerales (carbonatos, sulfatos, etc.), así como con sustancias orgánicas a través de fenómenos como el intercambio iónico, la adsorción, la quelación y la complejación, por esta razón la acumulación de metales pesados tiene lugar en sedimentos de ríos, lagos y océanos (Förstner y Wittmann 1981; Arán *et al*., 2017).

Biorremediación

La biorremediación es un tratamiento que utiliza naturalmente los organismos para descomponer sustancias peligrosas en menos tóxicas o en sustancias no tóxicas, se incluye la bioconcentración, biosorción y fitorremediación (Vijayaraghavan y Balasubramanian, 2015).

Fitorremediación

La fitorremediación proviene del griego fito (*phynton*) que significa "planta, vegetal" y una raíz latina, remedio (*remedium*) que significa "cura o remedio", la fitorremediación es un uso natural y directo de las plantas verdes para la captación y absorción de los contaminantes a través de las raíces y su translocación a la parte superior de la planta. Mediante esta técnica los contaminantes orgánicos e inorgánicos pueden eliminarse del suelo, lodo, sedimentos y agua contaminada (Sharma *et al.,* 2015). Esta tecnología es adecuada para la remoción de contaminantes en ecosistemas acuáticos y se ha vuelto cada vez más popular en países en desarrollo (Ali *et al*., 2013).

La fitorremediación es eficaz para eliminar una amplia gama de sustancias, incluyendo metales, radionucleidos y contaminantes orgánicos (como nutrientes, explosivos, tensoactivos, solventes clorados, bifenilos policlorados, hidrocarburos poliaromáticos, plaguicidas, benceno, tolueno, etileno y xileno (Kamusoko y Jingura, 2017).

Los procesos que se llevan a cabo en la fitorremediación incluyen rizofiltración, fitoextracción, fitodegradación, fitoestabilización, y fitovolatilización.

❖ Rizofiltración

La rizofiltración se basa en la capacidad de las raíces de las plantas para absorber y acumular contaminantes metálicos o exceso de nutrientes de los sustratos de crecimiento acuoso (corrientes de aguas residuales). Las plantas deben producir cantidades significativas de biomasa de raíz, siendo las plantas terrestres las más adecuadas para la rizofiltración porque producen sistemas radicales más largos y a menudo fibrosos con grandes áreas de contacto para la captación de metales (Jabeen *et al*., 2009).

❖ Fitoextracción

La fitoextracción consiste en la captación de contaminantes desde el suelo o el agua a través de las raíces de las plantas y su translocación y acumulación en la biomasa aérea (Yoon *et al*., 2002). Después de un crecimiento suficiente de la planta y estando completamente desarrollada, se corta e incinera antes de ser finalmente transportada, en forma de cenizas, a un sitio de disposición. El éxito de la fitoextracción depende especialmente de la capacidad de la planta por absorber contaminantes rápidamente y de almacenar grandes cantidades de éstos en el tejido superior (Jabeen *et al*., 2009).

❖ Fitoestabilización

La fitoestabilización es el uso de ciertas plantas para la fijación de contaminantes en suelos, reduciendo o eliminando la movilidad de elementos tóxicos del suelo contaminado al medio ambiente, por lo tanto, se estabilizan en el sustrato o las raíces (Rayu *et al.,* 2012). Transforman los metales del suelo a sus formas menos tóxicas, sin retirar el metal del suelo (Oyuela *et al*., 2017). Esta técnica se utiliza para reducir la movilidad y biodisponibilidad de los contaminantes en el medio ambiente, evitando así su migración a aguas subterráneas o su entrada en la cadena alimentaria.

❖ Fitodegradación

La fitodegradación reside en la descomposición de los contaminantes orgánicos a moléculas más simples por medio de plantas, con la ayuda de enzimas como la deshalogenasa y la oxigenasa. La fitodegradación se limita a la eliminación de contaminantes orgánicos, debido a que los metales no son biodegradables. Los contaminantes orgánicos son convertidos por enzimas internas o secretadas, en compuestos con menor toxicidad (Salt *et al*., 1998; Suresh y Ravishankar 2004). Las plantas son capaces de incorporar las estructuras de anillos rotos en el nuevo material vegetal o componentes orgánicos del suelo que se consideran no peligrosos (Peer *et al*., 2005).

❖ Fitovolatilización

La fitovolatilización consiste en la extracción y la transpiración de un contaminante o una forma modificada, por las plantas. Las plantas tienen la capacidad de convertir los contaminantes en especies químicas volátiles y menos tóxicas a través de la transpiración, ya que se volatilizan a la atmósfera a través de las estomas. Por ejemplo, la volatilización del mercurio (Hg) por conversión a su forma elemental mediante *arabidopsis.* El selenio (Se) es un caso especial de un metal que es absorbido por las plantas y volatilizado, después de la conversión al gas dimetil selenio (Peer *et al*., 2005).

Sin embargo, el proceso más utilizado es la fitoextracción que consiste en la captación de contaminantes inorgánicos, principalmente metales por sus raíces de plantas y su translocación dentro de los tejidos superiores. El resumen de los procesos y mecanismos de la fitorremediación se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Procesos de la fitorremediación

Proceso	Mecanismo	Descripción
Rizofiltración	Acumulación en la rizósfera	Absorción de metales en las raíces de las plantas.
Fitoextracción	Hiperacumulación	Capacidad de las plantas para absorber contaminantes en la planta y secuestrar el contaminante dentro del tejido de la planta.
Fitoestabilización	Acomplejamiento	Capacidad de la planta para reducir la movilidad del suelo contaminado.
Fitodegradación	Degradación en la planta	Capacidad de las plantas para absorber y descomponer los contaminantes orgánicos en moléculas más simples, a través de la actividad enzimática interna.
Fitovolatilización	Volatilización por hojas	Eliminación de contaminantes como selenio, mercurio, hidrocarburos volátiles a través de procesos de evapotranspiración.

Fuente: Kumar *et al*., 2018.

En general, la fitorremediación se basa en vías fisiológicas como la fotosíntesis, la transpiración, la translocación, la respiración y la evaporación que se producen en las plantas y su microflora asociada (Kamusoko y Jingura, 2017).

En la técnica de fitorremediación se pueden presentar ventajas y limitaciones en comparación a otras tecnologías, las cuales son mencionadas en la Tabla 3.

Tabla 3. Ventajas y desventajas de la fitorremediación

Ventajas	Desventajas
✓ Bajo costo ✓ Fácil implementación y mantenimiento ✓ Diferentes mecanismos de remoción ✓ Beneficia al medio ambiente ✓ Estéticamente agradable ✓ Menor tiempo que la atenuación natural ✓ Alta aceptación pública ✓ Menos emisiones al aire y agua ✓ Conservación de los recursos naturales	x Tiempo de remediación prolongado x Despende de las condiciones climatológicas x Posibilidad de que los contaminantes puedan entrar en la cadena alimentaria si la planta es consumida por animales

Fuente: Susarla *et al*., 2002.

Mecanismo de reacción

Los metales pesados afectan directamente los procesos biológicos en las plantas porque alteran las funciones enzimáticas, reemplazan metales esenciales en pigmentos o generan especies reactivas de oxígeno (Guterres *et al.*, 2019). Sin embargo, las plantas también son capaces de tolerarlos y acumularlos mediante ajustes y modificaciones de sus mecanismos fisiológicos, dependiendo del tipo de contaminante, concentración y condiciones de las especies (Islam *et al.*, 2015).

Cada especie vegetal tiene un papel específico en la fitorremediación y puede ser diferente su mecanismo de absorción de metales pesados, incluyendo: acumulación, translocación, osmorregulación y distribución, sin embargo, los más importantes son la acumulación, translocación y concentración (Bhargava *et al.,* 2012). Ciertos procesos fisiológicos ocurren a lo largo de vías específicas, en las plantas para eliminar, acumular, metabolizar y volatilizar contaminantes. La captación de metales depende principalmente de la biodisponibilidad del metal.

Las plantas son capaces de excretar sustancias para mejorar la biodisponibilidad del metal en la raíz. La absorción de metales en las plantas implica la intercepción de iones en las raíces, una vez que los iones metálicos han entrado en las raíces, pueden almacenarse en la raíz o transportarse al tejido superior principalmente a través de la xilema, la cual distribuye agua y minerales absorbidos por las raíces en todo el cuerpo de la planta (Salt *et al.*, 1995), como se ilustra en la Figura 2.

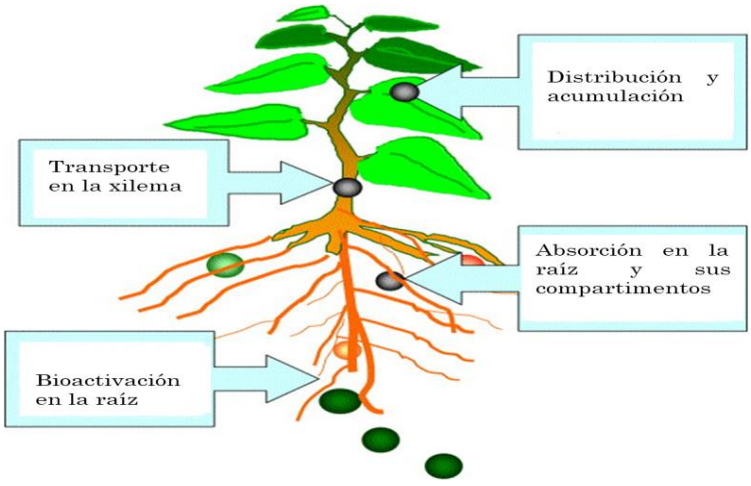


Figura 2. Principales procesos de acumulación de metales en las plantas

Fuente: Yang *et al.*, 2005.

Przemeck y Haase (1991) sugirieron una unión del metal mediante fitoquelatina en la savia de la xilema como un posible mecanismo para la translocación de metal.

Las plantas pueden actuar como acumuladoras y excluyentes (Sinha *et al*., 2007). Las acumuladoras sobreviven a altas concentraciones de contaminantes en sus tejidos mientras que las excluyentes restringen la absorción de contaminantes en su biomasa (Sinha *et al.,* 2007; Kumar *et al*., 2018).

La acumulación de contaminantes en las plantas acuáticas depende de factores biológicos (especies, edad de la planta, fisiología, fenología y tiempo de generación) o no biológicos (temperatura, salinidad, pH) (Bonanno y Lo Giudice, 2010; Eid *et al*., 2019).

Las plantas que pueden tolerar y acumular altas concentraciones de metales pesados sin algún síntoma visible de daño, se clasifican en "tolerantes", "acumuladoras" e "hiperacumuladoras" (Peer *et al*., 2005). Se ha propuesto el uso de plantas hiperacumuladoras para la descontaminación de sitios, debido a que varias especies no sólo toleran niveles tóxicos de ciertos metales, sino que también los hiperacumulan en sus tejidos (Baker y Brooks, 1989). Un hiperacumulador específico puede concentrar más de 10 mg/kg de Hg; 100 mg/kg de Cd; 1000 mg/kg de Co, Cr, Cu o Pb; o 10,000 mg/kg de Zn, Mn o Ni; estas concentraciones son en base seca (Reeves y Baker, 1999).

La hiperacumulación de metales pesados por plantas es un fenómeno complejo, que implica varios pasos, tales como: transporte de metales a través de la membrana plasmática de las células de la raíz, carga y translocación en la xilema, así como la desintoxicación y secuestro de metales en toda la planta (Lombi *et al*., 2002).

Una forma cuantitativa de clasificar las plantas es a través del factor de bioconcentración (FBC), este factor es la relación del metal en la biomasa de la planta o tejido con respecto a la concentración inicial del metal en el suelo o solución donde la planta crece (Ec. **1**). Esta relación es un factor determinante cuando se trata de identificar la eficiencia de remoción de un metal en una planta (Sukumaran, 2013).

$$FBC = \frac{\text{Concentración del metal en el tejido vegetal}}{\text{Concentración del metal en el agua}} \qquad \text{Ec. (1)}$$

Los valores del factor de bioconcentración muestran si las especies vegetales son tolerantes (FBC de 0.1 a 1.0), acumuladoras (FBC > 1.0), o hiperacumuladoras, si además de que el FBC > 1.0, las concentraciones de metales en la planta superan el 0.1% en biomasa seca (Baker y Brooks, 1989).

Otro parámetro importante para evaluar cuantitativamente la capacidad fitoextractora de las plantas es el factor de translocación (FT). Este índice que permite estimar la eficiencia de la planta para transportar el metal desde las raíces hasta las partes aéreas (Romero-Hernández, 2017), y se calcula mediante la Ec. (2).

$$FT = \frac{\text{Concentración del metal en la parte aérea}}{\text{Concentración del metal en la raíz}} \qquad \text{Ec. (2)}$$

En la especie *Eichhornia crassipes* se han reportado intervalos de factores de translocación entre 0.0026 y 0.025 para la translocación de Cu en concentraciones de 15 a 25 mg/L (Melignani *et al*., 2015). Sadasivan y Tharayil (2017) informaron factores de 1.72, 1.79 y 0.88, para translocar Cd, Pb y Cu, respectivamente mediante *Eichhornia crassipes* al tener concentraciones iniciales de 18.9 mg Cd/L, 20.3 mg Pb/L y 19.7 mg Cu/L. Romero-Hernández *et al.* (2017) evaluaron el proceso de fitoextracción de Cu, Pb, Hg y Zn y reportaron factores de traslocación de 0.051, 0.272, 0.034 y 0.455 para transferir Cu, Pb, Hg y Zn, respectivamente a través de *Eichhornia crassipes* mientras que en *Myriophyllum aquaticum* los factores fueron de 0.299, 0.253, 0.208 y 0.260 de Cu, Pb, Hg y Zn, respectivamente. Colzi *et al.* (2018) estudiaron la fitoextracción de Cd, Cr, Ni y Zn en *Myriophyllum aquaticum* e informaron factores de translocación de 0.49, 0.073, 0.30 y 0.2, respectivamente de cada metal.

Cinética de fitoextracción

La captación y transporte de metales en las plantas frecuentemente se lleva a cabo mediante sistemas de transporte de alta afinidad y generalmente siguen la cinética de Michaelis-Menten (Guterres *et al*., 2019). La velocidad máxima de remoción, V_{max} y la constante cinética de saturación k_m pueden estimarse ajustando los datos experimentales a este modelo (Brix *et al*., 2002). La ecuación de Michaelis-Menten, describe la velocidad de remoción del contaminante, V (mg h^{-1}) con una concentración del contaminante, C (mg L^{-1}), la biomasa de la planta en base seca, M (kg), la velocidad máxima de remoción, V_{max} (mg kg^{-1} h^{-1}) y la constante de Michaelis-Menten, k_m (mg L^{-1}) (Dowd y Riggs, 1965), se muestra en la Ec.(3) sin embargo, en la práctica es complicado evaluar V_{max} con precisión a partir de la gráfica ya que la curva se aproxima asintóticamente .

$$V=\frac{V_{max}C}{k_m+C}M$$

Ec. (3)

La linealización de la Ec. (3) corresponde al modelo Lineweaver-Burk para trazar datos cinéticos, esto se muestra en la Ec. (4) (Yu y Gu, 2007).

$$\frac{M}{V}=\frac{k_m}{V_{max}}\left(\frac{1}{C}\right)+\frac{1}{V_{max}}$$

Ec. (4)

Yu *et al.* (2005) obtuvieron los parámetros V_{max} y k_m, cuantificando la cinética de Michaelis-Menten, en plantas vasculares el tiempo de exposición fue de 28 horas, por ejemplo, la V_{max} en remover cianuro por *Populus deltoides marsh* y P*runus persica selb* fueron de 10.49 mg kg^{-1} h^{-1} y 16. 50 mg kg^{-1} h^{-1}. Narang *et al.* (2011), determinaron la cinética de fitoextracción de Hg en *Eichhornia crassipes*, con V_{max} =7.184 mg L^{-1} h^{-1}. Rofkar y Dwyer (2011), reportaron la V_{max} y k_m de As, en las especies *Spartina pectinata* (21.3 mg L^{-1}; 24.5 mg L^{-1} h^{-1}) y *Carex stricta* (74.4 mg L^{-1}; 46.5 mg L^{-1} h^{-1}). Chua *et al.* (2019), obtuvieron como V_{max} = 13.68 mg kg^{-1} d^{-1} y km =2.06 mg L^{-1} de Cu, en especies de bambú filipino.

Especies vegetales

Las plantas acuáticas son aquellas que completan su ciclo biológico cuando todas sus partes se encuentran sumergidas o flotando en la superficie del agua (Valipour y Ahn, 2016). Las plantas alóctonas no son nativas de una región fitogeográfica, es decir fueron introducidas intencionalmente por los humanos para satisfacer ciertas demandas, mientras que las plantas autóctonas son nativas de un territorio (Oyuela *et al.,* 2017).

De acuerdo con Valipour y Ahn (2016) las especies de plantas utilizadas para la fitorremediación es recomendable que sean nativas y tengan una rápida tasa de crecimiento, un extenso sistema radical, un alto rendimiento de biomasa, buena adaptación a diferentes hábitats, alta tolerancia y buena capacidad de acumulación. Las concentraciones de los metales pesados son generalmente mayores en la raíz que en las partes aéreas de la biomasa, ya que especialmente en las raíces están los sitios iniciales de captación; se cree que las plantas desarrollan mecanismos internos de tolerancia a la toxicidad para proteger su aparato fotosintético (Drązkiewicz y Baszynski, 2005). Algunos mecanismos adaptativos desarrollados por plantas tolerantes incluyen la inmovilización, la exclusión, la distribución y transporte, la quelación y el secuestro de los metales (Hossain *et al*., 2012).

Lirio acuático *(Eichhornia crassippes)*

En la Figura 3 se observa al ejemplar del lirio acuático, pertenece a la familia *Pontederiacea*, género *Eichhornia* y especie *crassipes.* Es un macrófito acuático que flota libremente, se reproduce a través de ramets (plantas hijas) formadas por brotes axilares en estolones, una vez que los ramets se hayan desarrollado en las raíces, los estolones se rompen y se separan de la planta madre, y también se reproduce sexualmente a través de la producción de semillas (Center y Spencer, 1981).

Su morfología es de soportes densos, los pecíolos son alargados con hojas circulares, cortas y bulbosas. Tiene de 6 a 10 hojas, las cuales pueden durar de 6 a 8 semanas antes de la senescencia. Esta especie florece de mayo a septiembre y las flores son de color azul pálido o violeta, mostrando un centro amarillo.

Figura 3. Especie *Eichhornia crassipes*

Las plantas colonizan rápidamente nuevos hábitats al ser transportadas por las corrientes de agua o por las aves (semillas). Las plántulas son heteroblásticas, por lo que tienen dos tipos diferentes de morfología, esto se muestra en la Figura 4. La proliferación se da en un intervalo de pH entre 4 y 10, altas intensidades de luz, oscilaciones de temperatura, agua rica en nutrientes (Methy *et al*., 1990). Las raíces permanecen sumergidas, y el color púrpura es muy característico cuando crecen en aguas con bajas concentraciones en nutrientes (GIC, 2006).

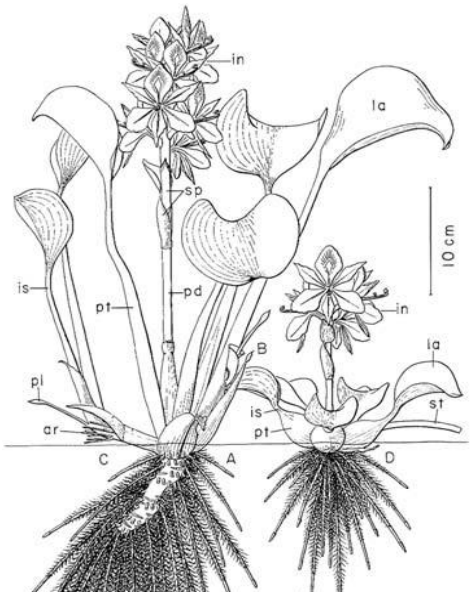


Figura 4. Morfología de *Eichhornia crassipes*

Fuente: Center *et al*., 2002.

La efectividad de la especie *Eichhornia crassipes* en la eliminación de contaminantes orgánicos e inorgánicos del agua ha sido probado en varias ocasiones. Xiaomei *et al.,* 2004 expusieron a la especie a un agua con concentración de 2 mg Cd/L y después de 12 días determinaron una eficiencia del 95 %. Mokhtar *et al.* (2011), realizaron la fitoextracción en agua, con concentración de 1.5 mg Cu/L, reportando un 97 % de eficiencia en 21 días y se reportó una retención de 23387 mg Cu/kg. Newete *et al.* (2016), estudiaron el proceso de fitoextracción y el secuestro de metales, en agua contaminada con concentración de 0.294 mg As/L, 1.61 mg Cu/L, 1.05 mg Hg/L, 2.0 mg U/L y en 21 días se lograron eficiencias de remoción del 12 %, 83 %, 99 % y 61 %, respectivamente. Romero-Hernández *et al.* (2017) evaluaron el proceso de fitoextracción en *Eichhornia crassipes*, al colocarla en agua con concentración de 10 mg Cu/L, 0.5 mg Pb/L, 0.5 mg Hg/L y 0.5 mg Zn/L y después de 10 días de tiempo de contacto, determinaron que las eficiencias de remoción fueron del 99 %, 97 %, 99 % y 94 %, respectivamente, la raíz de la planta tenía concentraciones de 490 mg Cu/kg, 17 mg Pb/kg, 31 mg Hg/kg, y 1.2 mg Zn/kg. Sadasivan y Tharayil (2017) reportaron eficiencias del 49 %, 67 % y 10 % en la remoción de Cd, Pb y Cu, respectivamente, en 25 días de tiempo de contacto, y al tener en concentraciones iniciales de 18.8 mg Cd/L, 20.3 mg Pb/L y 19.7 mg Cu/L; se logró acumular 5600 mg Pb/kg, 5845 mg Cu/kg y 4200 mg Cd//kg. De Souza *et al.* (2018) estudiaron el proceso de fitoextracción y reportaron una eficiencia del 83 % al exponer a *Eichhornia crassipes* a una solución de 0.5 mg As/L durante 10 días y la planta retuvo 498 mg/kg.

Sirena *(Myriophyllum aquaticum)*

La planta sirena se observa en la Figura 5, está incluida en la familia *Haloragaceae*, género *Myriophyllum* y especie *aquaticum*. Es un macrófito semisumergido en el agua. Planta perenne de tallo erguido, con hojas pinnadas, colocadas alrededor de un tallo robusto en grupos de 4 a 6 hojas.

Figura 5. Especie *Myriophyllum aquaticum*

Las hojas miden de 1.5 a 3.5 cm, y tienen de 20 a 30 divisiones (segmentos filiformes) por hoja, lo que le confiere un aspecto plumoso, su morfología se puede observar en la **Figura 6**.

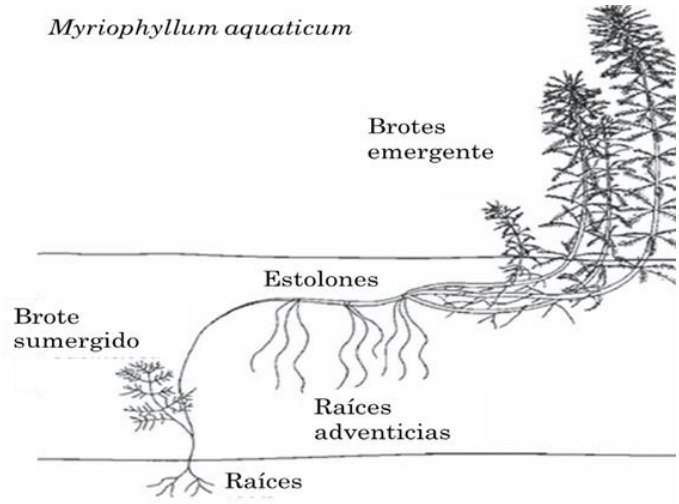


Figura 6. Morfología de *Myriophyllum aquaticum*

Fuente: Wersal *et al.*, 2011.

El alargamiento del tallo obliga a extenderse a lo largo de la superficie del agua y formar raíces adventicias y nuevas ramas de los entrenudos, creando esteras densas (Sytsma y Anderson, 1993; Hussner *et al*., 2009).

Las plantas no se afectan por las heladas y la tasa de crecimiento depende principalmente de la temperatura y la disponibilidad de luz. Su crecimiento inicia cuando la temperatura del agua alcanza los 8 ° C (Moreira *et al*., 1999; Wersal *et al*., 2011).

Algunos autores reportan la capacidad fitoextractora de la especie *Myriophyllum aquaticum*. Romero-Hernández *et al*. (2017) evaluaron el proceso de fitoextracción en agua con concentración de 10 mg Cu/L, 0.5 mg Pb/L, 0.5 mg Hg/L y 0.5 mg Zn/L y después de 10 días de tiempo de contacto, determinaron que las eficiencias de remoción fueron del 95 %, 94 %, 99 % y 91 %, respectivamente, la raíz de la planta tenía concentraciones de 158 mg Cu/kg, 9.4 mg Pb/kg, 23 mg Hg/kg, y 4.5 mg Zn/kg. Colzi *et al*. (2018) realizaron estudios de fitoextracción, duraron 7 días y se logaron obtener porcentajes de eliminación de Cd, Cr, Ni y Zn del 83 %, 34 %, 33 % y 76 %, respectivamente, el agua tenía una concentración inicial de 1.0 mg/L de cada metal y la concentración final en la raíz de la planta fue de 14341 mg Cd/kg, 1170 mg Cr/kg, 469 mg Ni/kg y 2063 mg Zn/kg.

Lentejuela *(Wolffia columbiana)*

El género *Wolffia* se compone de las plantas acuáticas más pequeñas (en su mayoría aproximadamente 2.0 mm), su reducción del tamaño ocasiona la complejidad del cuerpo de la planta (Crawford y Landolt, 1995). La especie *Wolffia columbiana* es nativa de América, tiene forma ovalada y se muestra en la Figura 7, tiene una alta productividad en la generación de biomasa.

Figura 7. Especie *Wolffia columbiana*

Las hojas y tallos, distinguibles en la mayoría de las plantas vasculares, son reemplazados por una fusión de ambos, llamados frondas, su mecanismo de reproducción implica la formación de frondas hijas de una bolsa reproductiva de una fronda madre (Bog *et al*., 2013).

Tienen un sistema radicular central por lo que pueden absorber los nutrientes o contaminantes del agua hacia toda la planta (Kruse *et al*., 2002). Srivastava *et al*. (2014) evaluaron el proceso de fitoextracción en agua con concentración de 2.5 mg/L de As, mediante las especies *Lemna minor* y *Wolffia columbiana*, el tiempo de contacto fue de 30 días, determinando una concentración máxima de 377 mg/kg en *Lemna minor* y 354 mg/kg en *Wolffia globosa*. La fitoacumulación en *Wolffia globosa*, al estar en contacto 12 días con un agua con concentración de 8 mg/L de Cd y Cr, la planta logró acumular 5931 mg Cd/kg y 3500 mg Cr/kg (Boonyapookana *et al.,* 2002).

Los resultados de algunas investigaciones relacionadas con la fitoextracción de contaminantes empleando especies *Eichhornia crassipes, Myriophyllum aquaticum* y Wolffia columbiana se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4. Trabajos relacionados con la fitoextracción de contaminantes

Especie	Concentración inicial (mg/L)	Acumulación (mg/kg)		Factor de bioconcentración FBC		Factor de translocación FT	Referencia
		Raíz	Parte Aérea	Raíz	Parte Aérea		
Eichhornia crassipes	Cd 0.5 Cd 1 Cd 2 Cd 4	120 410 1000 2044	19 36 84 113	263 396 622 460			Xiaomei *et al.*, 2004
Eichhornia crassipes	Cd 20 Zn 20 Cr 20	4180 6870 2060					Saraswat y Rai, 2010
Eichhornia crassipes	Cu 1.0 Pb 0.5 Hg 0.5 Zn 0.5	480 32 9 17	30 2 4 5	17.38 4.19 0.59 0.55	1.40 0.23 0.42 0.23	0.05 0.03 0.45 0.27	Romero-Hernández *et al.*, 2017
Eichhornia crassipes	Cd 18.86 Pb 20.34 Cu 19.77	5000 6000 5800	1800 1800 2000	448.12 502.65 664.90		1.79 1.72 0.88	Sadasivan y Tharayil, 2017
Eichhornia crassipes	Cd 0.12 Pb 0.18 Zn 0.12	7.3 0.8 47.6	6.8 0.7 16.6	57.5 4.4 419.5	53.4 8.1 137.0	0.9 1.4 0.5	Sricoth *et al.*, 2018
Myriophyllum aquaticum	Cu 4.5 Ni 12.1 Pb 3.2	4.4 25.7 2.0		0.977 0.471 0.625			Harguinteguya *et al.*, 2013
Myriophyllum aquaticum	Pb 15.0 Zn 20	3798.9 2348.9		2.532 1.174			Harguinteguya *et al.*, 2013
Myriophyllum aquaticum	Cu 1.0 Pb 0.5 Hg 0.5 Zn 0.5	150 24 33 9	40 6 8 3	7.489 1.803 2.301 0.259	1.19 0.197 0.318 0.035	0.30 0.21 0.26 0.25	Romero-Hernández *et al.*, 2017
Myriophyllum aquaticum	Cd 1.0 Cr 1.0 Ni 1.0 Zn 1.0	1431 1170 469 2063	405 86.6 130.1 268.5			0.49 0.07 0.30 0.20	Colzi *et al.*, 2018

Tabla 4 (Continuación). Trabajos relacionados con la fitoextracción de contaminantes

Especie	Concentración inicial (mg/L)	Acumulación (mg/kg)	Factor de bioconcen-tración FBC	Referencia
Wolffia globosa	Cd 8.0 Cr 8.0	5931 3500	741.5 437.6	Boonyapookana *et al.*, 2002
Wolffia globosa	As (III) 1.0 As (V) 1.0	1057 1070	940 976	Zhang *et al.*, 2009
Wolffia globosa	As 2.5	354		Srivastava *et al.*, 2014
Lemna minor	As 2.5	377		Srivastava *et al.*, 2014

Humedales

Los humedales naturales o artificiales se utilizan ampliamente para la eliminación de metales pesados y contaminantes de las aguas residuales (Rezania *et al.*, 2016).

Los humedales son zonas de transición entre los sistemas acuáticos y terrestres que constituyen áreas de inundación temporal o permanente, sujetas o no a la influencia de mareas, como pantanos, ciénagas y marismas, cuyos límites los constituyen el tipo de vegetación y su presencia permanente o estacional. Los humedales son ecosistemas acuáticos y semiacuáticos, sujetos a agua permanente o periódica con poca profundidad. Son denominados "riñones de la naturaleza", dado que almacenan temporalmente agua, reducen los daños por inundación, rellenan subterráneamente suministros de agua, es decir, humedales conectados a aguas subterráneas (Garg, 2015).

Los humedales artificiales son sistemas de tratamiento que utilizan procesos naturales que involucran la vegetación, los suelos y sus microorganismos para mejorar la calidad del agua. Se usan comúnmente para detectar el potencial de fitorremediación de las plantas acuáticas, ya que son efectivos para controlar las propiedades fisicoquímicas de las aguas residuales (Sricoth *et al.*, 2018).

Los humedales artificiales proporcionan hábitats de vida silvestre, retienen contaminantes y tratan las aguas residuales; debido a la vegetación presente (natural o inducida) pueden eliminar la mayoría de los contaminantes asociados con aguas residuales municipales e industriales, reducir o eliminar olores y también son empleados para eliminar metales, incluidos el cadmio, el cromo, el hierro, el plomo, el selenio, el zinc y compuestos orgánicos tóxicos (Rezania *et al*., 2016; Xu *et al*., 2014; Ray e Inouye, 2007). A continuación, se mencionan tipos de humedales artificiales:

- Humedal de flujo superficial

El humedal de flujo superficial consiste en canales con la superficie del agua expuesta a la atmósfera y el fondo constituido por suelo relativamente impermeable, o con una cubierta impermeable, vegetación emergente y niveles de agua poco profundos que oscilan entre 0.1 y 0.6 metros. El tratamiento se produce durante la circulación lenta del agua a través de los tallos y raíces de la vegetación.

- Humedal artificial de flujo subsuperficial

El humedal de flujo subsuperficial consiste en un filtro biológico relleno de un medio poroso (por ejemplo, piedra volcánica, grava), en el cual las plantas se siembran en la superficie del lecho filtrante y las aguas residuales pretratadas atraviesan de forma horizontal o vertical el lecho filtrante, en estos sistemas el nivel del agua se mantiene por debajo de la superficie del medio granular (Arias *et al.,* 2010).

- Isla flotante artificial

Las islas flotantes artificiales (IFA) son otro tipo de humedales artificiales, es una estructura de plantación sin suelo construida con esteras flotantes, plantas acuáticas flotantes, con raíces sedimentarias y comunidades ecológicas relacionadas (Faulwetter *et al*., 2011). Se construyen con la hoja superior y el tallo de las plantas, el cuerpo flotante y el sistema radical, también se incluyen las comunidades ecológicas como algas, biopelículas, zooplancton y otros pequeños invertebrados. También se desarrolla una capa de lodo orgánico por debajo de la zona de agua (He *et al*., 2017).

Normatividad mexicana

La introducción de nuevos contaminantes es una problemática que se ha agravado durante los últimos años. Para controlar la calidad del agua y así evitar medios de contaminación (agua, suelo y eventualmente aire), la normatividad mexicana que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales es la **NOM-001-SEMARTNAT-1996** (DOF, 1996).

Las concentraciones que establece la norma para los contaminantes estudiados se muestran en la Tabla 5 (DOF, 1996).

Tabla 5. Límites máximos permisibles en descargas de aguas

	Ríos						Embalses naturales y artificiales				Aguas costeras					
(mg/L)	Uso en riego agrícola		Uso público urbano		Protección de vida acuática		Uso en riego agrícola		Uso público urbano		Explotación pesquera		Recreación		Estuarios	
	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.
Arsénico	0.2	0.4	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.2
Cadmio	0.2	0.4	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.2
Cobre	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0

P.M.= Promedio Mensual, P.D.= Promedio Diario

Fuente: DOF, 1996.

Los residuos peligrosos se han diversificado en la medida que se modifican o presentan nuevos procesos de extracción, transformación, producción, uso y tratamiento. La **NOM-052-SEMARNAT-2005** (DOF, 2005), establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y el listado de los residuos peligrosos con el fin de identificarlos, porque pueden representar un riesgo para el equilibrio ecológico, el ambiente y la salud de la población en general.

El extracto PECT, es el lixiviado a partir del cual se determinan los constituyentes tóxicos de un residuo y su concentración, con la finalidad de identificar si éste es peligroso por su toxicidad al ambiente.

Los límites máximos permisibles para los constituyentes tóxicos en el extracto PECT, se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Límites máximos permisibles para los constituyentes tóxicos en el extracto PECT.

Contaminante	Concentración máxima (mg/L)
Arsénico	5.0
Cadmio	1.0

Para determinar si la biomasa generada por las especies vegetales es un residuo peligroso, se compararon las concentraciones en el tejido vegetal de cada una de las experimentaciones con respecto a los límites máximos permisibles para los constituyentes tóxicos en el extracto PECT (DOF, 2005).

Capítulo 4

Desarrollo Experimental

En este proyecto se estudió y evaluó el proceso de fitoextracción de arsénico, cadmio y cobre en agua residual industrial. El trabajo experimental se dividió en tres experimentaciones, para determinar la influencia de la concentración del agua residual, el pH y la interacción de los contaminantes. Se estableció la cinética de fitoextracción de As y Cd en las plantas acuáticas *Eichhornia crassipes*, *Myriophyllum aquaticum* y *Wolffia columbiana*, y se determinó su potencial de remediación en cuerpos de agua contaminados.

Especies vegetales

Los ejemplares del lirio (*Eichhornia crassipes*) y lentejuela (*Wolffia columbiana*) fueron recolectados del amanal (latitud 19.698935, longitud -98.754746) que se muestra en la Figura 8, situado en el municipio de Otumba, Estado de México.

Figura 8. Amanal de Otumba

Los ejemplares de la sirena (*Myriophyllum aquaticum*) fueron recolectados del embarcadero de Nativitas (latitud 19.248984, longitud -99.093296), que se muestra en la Figura 9, situado en la alcaldía de Xochimilco, Ciudad de México.

Figura 9. Embarcadero de Nativitas

Las plantas se trasladaron al laboratorio donde se lavaron minuciosamente con agua para remover suelo adherido, se colocaron en contenedores de plástico, añadiendo agua de la toma municipal, y se añadieron nutrientes, para alcanzar las concentraciones de 12 mg N/L y 1.04 mg P/L, de acuerdo con Yan *et al.* (2017) a pH de 6.5. Se aclimataron durante 3 semanas en el invernadero del Laboratorio de Calidad de Agua y Residuos de la UAM-A (Figura 10). Las condiciones promedio del invernadero fueron: 37 ° C y una humedad relativa de 30.5 %.

Figura 10. Invernadero del Laboratorio de Calidad del Agua y Residuos

Posterior al tiempo en que se aclimataron los ejemplares, se traspasaron a los humedales artificiales con capacidad para contener 4 L de agua residual y sus respectivas plantas. Todas las muestras tenían un pH de 6.5. Cada tratamiento se llevó a cabo durante 60 días en donde el monitoreo de la remoción de arsénico, cadmio y cobre en las muestras de agua se realizó al inicio del periodo y cada 15 días. Se recuperó el agua pérdida por evapotranspiración. Fue colocado un blanco para cada especie en cada experimentación. Se decidió que el humedal estuviera cubierto de polietileno de alta densidad (PEAD), para evitar el paso de los rayos solares para que así la raíz no estuviera expuesta a la luz.

Para simular el humedal artificial, se seleccionaron contenedores de PEAD con dimensiones de 21.5, 18.3 y 12 cm de base, ancho y alto, respectivamente, en donde se cultivaron las especies con las diferentes condiciones de operación. En cada contenedor fueron colocados cuatro litros del agua residual y no se agregó sustrato alguno, debido a que los metales podrían ser absorbidos en el sustrato. Durante un experimento de fitoextracción de As en agua sintética con *Eleocharis macrostachya*, Valles-Aragón y Alarcón-Herrera (2014) reportaron el depósito de hasta un 70 % de As en el sustrato. Por lo tanto, solo se colocó a la especie acuática flotando en el agua contaminada, sin sustrato, siendo un tipo de humedal artificial de isla flotante (IFA).

Se pesaron los ejemplares de lirio (*Eichhornia crassipes*) para determinar una masa promedio constante para las otras dos especies, ya que el lirio no se puede separar por su morfología y las demás plantas si se pueden separar, esto para que al final de las experimentaciones se pudiera hacer una comparación entre las especies.

Diseño experimental

Primero se determinaron las variables que serían medidas, los intervalos de interés para el estudio de esas variables, el orden en el cual sus diferentes combinaciones serían corridas para así obtener el conjunto de experimentos. Se eligió un diseño 2^k, el número 2 indica el factor, y k son los niveles del factor al que serían evaluados, para así tener una forma sistemática de los experimentos, analizando el efecto que tuvo cada factor y su interacción entre éstos.

El factor 1 fue el material biológico, es decir las especies vegetales empleadas, por lo que se tuvieron 3 niveles: *Eichhornia crassipes*, *Myriophyllum aquaticum* y *Wolffia columbiana*. El factor 2 correspondió a la muestra de agua residual, con 2 niveles: alta concentración (As=2.42 mg/L, Cd= 2.05 mg/L, Cu=26.58 mg/L) y baja concentración (As=1.43 mg/L, Cd= 0.99 mg/L, Cu=19.39 mg/L). Los experimentos fueron realizados por triplicado. La forma sistemática del diseño se muestra en la Tabla 7.

Tabla 7. Diseño de experimentos con mezcla de As, Cd y Cu a pH neutro

Especie	Biomasa BH (g)	Muestra	Concentración (mg/L)		
Eichhornia crassipes	210.2	Alta	As= 2.42	Cd= 2.05	Cu=26.58
Myriophyllum aquaticum	203.8	Alta	As= 2.42	Cd= 2.05	Cu=26.58
Wolffia columbiana	205.0	Alta	As= 2.42	Cd= 2.05	Cu=26.58
Eichhornia crassipes	202.5	Baja	As= 1.43	Cd= 0.99	Cu=19.39
Myriophyllum aquaticum	207.5	Baja	As= 1.43	Cd= 0.99	Cu=19.39
Wolffia columbiana	205.0	Baja	As= 1.43	Cd= 0.99	Cu=19.39

Con base en los resultados obtenidos de la fitoextracción de arsénico, cadmio y cobre, se estableció otra nueva experimentación de un diseño factorial 2^k. De nuevo el factor 1 fue las especies vegetales empleadas, por lo que se presentaron 3 niveles: *Eichhornia crassipes*, *Myriophyllum aquaticum* y *Wolffia columbiana*. El factor 2 correspondió al pH de una muestra de agua residual con concentración (As=2.43 mg/L, Cd= 2.83 mg/L, Cu=31.34 mg/L), teniendo 2 niveles: pH neutro (7) y pH ácido (4.5). La acidificación del agua fue mediante H_2SO_4. Los experimentos también se realizaron por triplicado. Las condiciones de esta nueva experimentación se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8. Diseño de experimentos con mezcla de As, Cd y Cu en medio ácido

Especie	Biomasa BH (g)	Concentración (mg/L)
Eichhornia crassipes	223.3	As= 2.43 Cd= 2.83 Cu=31.34
Myriophyllum aquaticum	216.0	As= 2.43 Cd= 2.83 Cu=31.34
Wolffia columbiana	220.8	As= 2.43 Cd= 2.83 Cu=31.34

Para observar la interacción de los contaminantes y su afinidad hacia cada especie vegetal, se decidió emplear agua sintética contaminada con arsénico, cadmio y cobre por separado. Se realizó una tercera experimentación de un diseño factorial 2^k. Nuevamente el factor 1 fue las especies vegetales empleadas, por lo que se presentaron 3 niveles: *Eichhornia crassipes*, *Myriophyllum aquaticum* y *Wolffia columbiana*. El factor 2 correspondió a la presencia de los contaminantes en el agua residual con concentración (As=2.61 mg/L, Cd= 2.93 mg/L, Cu=29.59 mg/L), teniendo 2 niveles: mezcla de contaminantes y contaminantes solos. La experimentación se llevó a cabo por triplicado. La concentración a la cual fueron expuestas las especies vegetales con cada uno de los contaminantes sin estar mezclados en el agua se observa la Tabla 9.

Tabla 9. Diseño de experimentos sin estar mezclados el As, Cd y Cu, a pH neutro.

Especie	Biomasa BH (g)	Concentración (mg/L)		
		Arsénico	Cadmio	Cobre
Eichhornia crassipes	200.8	2.61	2.93	29.59
Myriophyllum aquaticum	196.5	2.61	2.93	29.59
Wolffia columbiana	196.4	2.61	2.93	29.59

El tiempo de contacto en la experimentación en medio neutro y mezcla de contaminantes fue de 60 días, 45 días en el agua sintética en la que los contaminantes no estaban mezclados y a pH neutro debido a que en la experimentación anterior se consideró que la eliminación de los contaminantes fue constante después de los 45 días; y el tiempo de contacto en medio ácido fue de 21 días por el estrés que podrían tener los ejemplares.

El balance de masa de los contaminantes se calculó considerando la masa total de arsénico, cadmio y cobre del agua al inicio y final en cada experimento, así como la masa de los contaminantes en los lodos y en la biomasa de cada ejemplar, al final del proceso, de acuerdo con Valles-Aragón y Alarcón-Herrera (2014); Rahman *et al.* (2011).

Análisis de metales

La cuantificación de metales en el agua se realizó mediante espectrofotometría de absorción atómica, empleando los métodos EPA 3015A (U. S. EPA, 2007) y NMX-AA-051 (DOF, 2016), en un espectrofotómetro de absorción atómica Varian de modelo SpectrAA-200, que se observa en la Figura 11.

Al final de cada experimentación se determinó la concentración de metales en los ejemplares de las especies vegetales, las cuales previamente se separaron en raíz y órganos superiores (tallo y hojas), las cuales se secaron a temperatura ambiente, se trituraron y colocaron 0.5 g de cada muestra con 10 mL de ácido nítrico, para la digestión ácida, de acuerdo con el método EPA 3051A (U.S. EPA, 2007).

Figura 11. Espectrofotómetro SpectrAA-200

Las digestiones ácidas se realizaron en un horno de microondas marca MARS-X que se muestra en la Figura 12.

Figura 12. Microondas MARS-X

Capítulo 5

Resultados

Biomasa

La biomasa generada por la especie *Eichhornia crassipes* al término de los experimentos se muestra en la Figura 13.

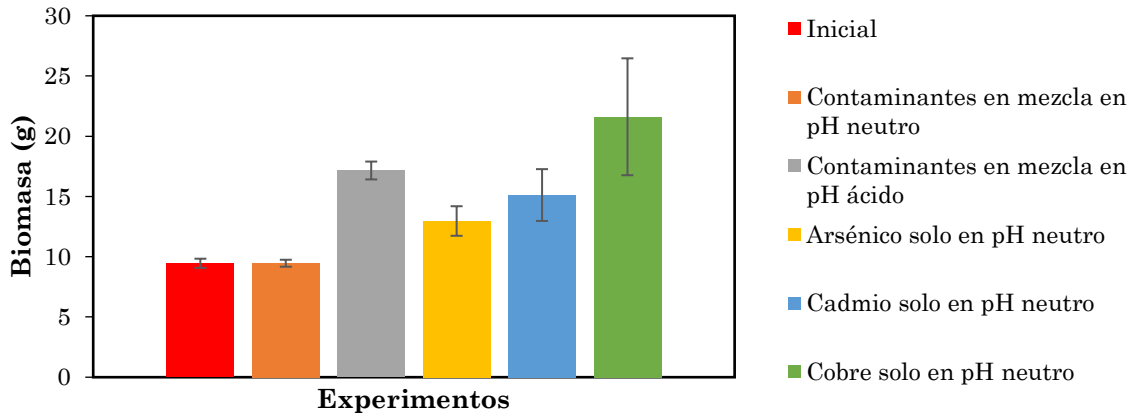


Figura 13. Biomasa de *Eichhornia crassipes* al final de cada experimentación

En todos los experimentos, la biomasa de *Eichhornia crassipes* aumentó, se puede observar que en la experimentación en donde los tres contaminantes estaban en mezcla a pH neutro, género poca biomasa, ya que solo hay una diferencia de 0.1 g con respecto a la biomasa inicial, mientras que en el medio ácido la biomasa final fue de 17 g, aproximadamente el doble de la biomasa inicial. Al exponer la especie en el agua sintética, se cuantificó una biomasa final de 21 g en el agua con Cu, mientras que la biomasa de la experimentación de Cd y As fueron de 15 g y 12 g, respectivamente, se observa una estimulación en la generación de biomasa que puede atribuirse al hecho de que la planta utilizó As, Cd y Cu como micronutrientes para su supervivencia (Boonyapookana *et al.*, 2002). Eid *et al.* (2019) al investigar la fitoextracción de Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn, reportaron que la biomasa de *Eichhornia crassipes* en el experimento con Cu, aumento 40 g, por lo que tiene un efecto favorable en la generación de biomasa.

En la Figura 14 se observa la disminución de la biomasa de la especie *Myriophyllum aquaticum* en cada uno de los experimentos.

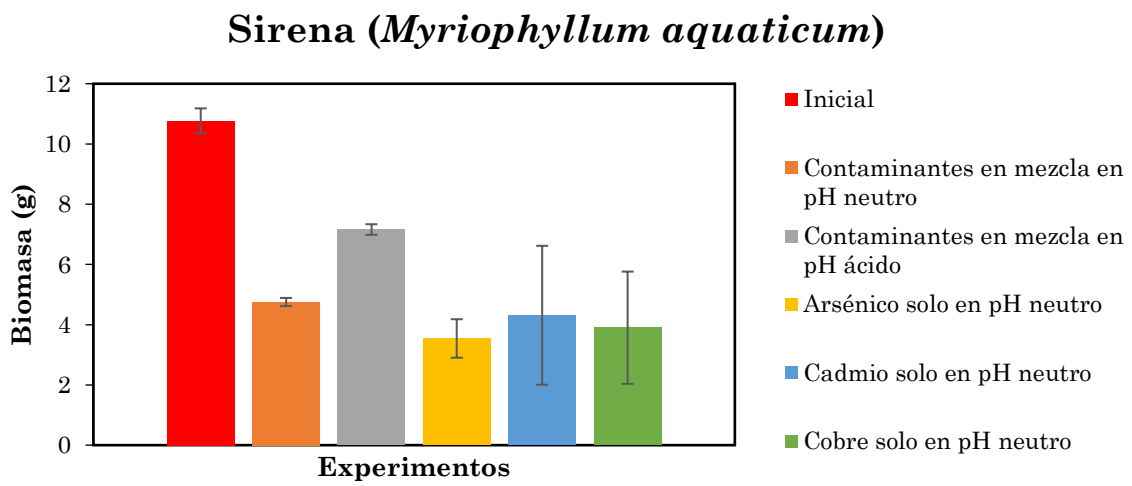


Figura 14. Biomasa de *Myriophyllum aquaticum* al final de cada experimentación

La biomasa de *Myriophyllum aquaticum* disminuyó desde el 30 % (experimentos en medio ácido) y hasta el 55 % (agua sintética). Esto coincide con las tendencias reportadas con Benáková *et al.* (2017); en sus experimentos de fitoextracción de Cd y Zn con *Brassica napus*, cuando la planta estuvo expuesta solo a Cd el crecimiento de la biomasa se redujo significativamente. A pesar de que la biomasa disminuyó en todas las condiciones, probablemente al estar cerca de la etapa de senescencia, se consideró eficiente su uso en el proceso de fitoextracción al concentrar los contaminantes en una menor cantidad de planta.

La biomasa generada al término de los experimentos por la especie *Wolffia columbiana* se muestra en la **Figura 15**.

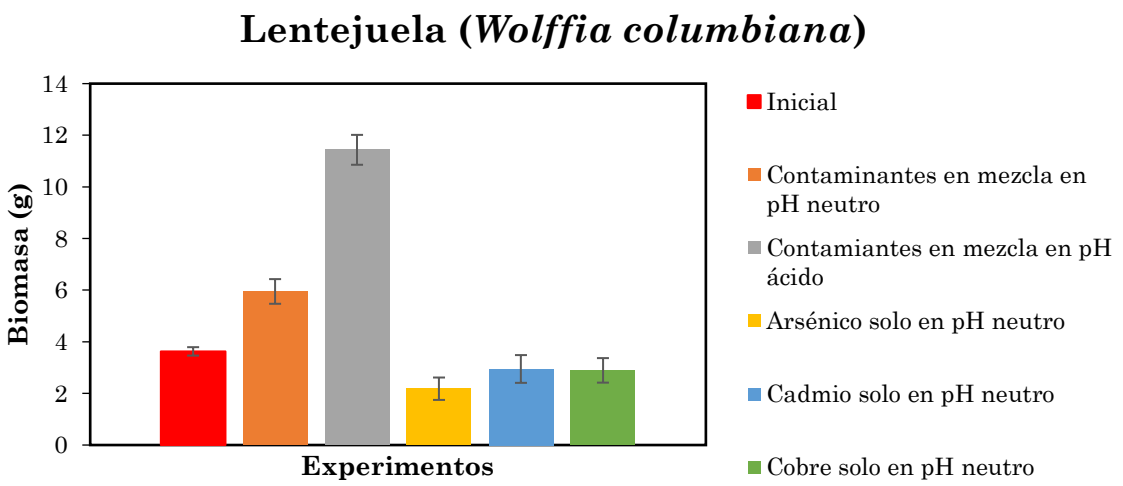


Figura 15. Biomasa de *Wolffia columbiana* al final de cada experimentación

La biomasa de *Wolffia columbiana* aumentó en los experimentos en donde los contaminantes estaban mezclados, en medios neutro y ácido, con una biomasa final de 5.9 g y 11.4 g, respectivamente. La biomasa de *Wolffia columbiana* se redujo un 40 % en el agua con As, mientras que, en el agua con Cd y Cu, esta reducción fue solo del 20 %, es posible que la disminución en la producción de biomasa se debiera a efectos tóxicos; Boonyapookana *et al*. (2002) reportaron la disminución de la producción de la biomasa en *Wolffia globosa* en presencia de Cd y Cr por posibles efectos tóxicos.

Cuantificación de metales

Concentración de metales en el agua

*Mezcla de contaminantes a pH neutro

A continuación, se muestran los resultados de la remoción de los contaminantes a través del tiempo, en la experimentación en la cual se encontraban mezclados y a un pH neutro.

Las Figuras 16, 17 y 18 hacen referencia a la remoción de arsénico, cadmio y cobre respectivamente, para evaluar y comparar la eficiencia entre cada una de las especies vegetales.

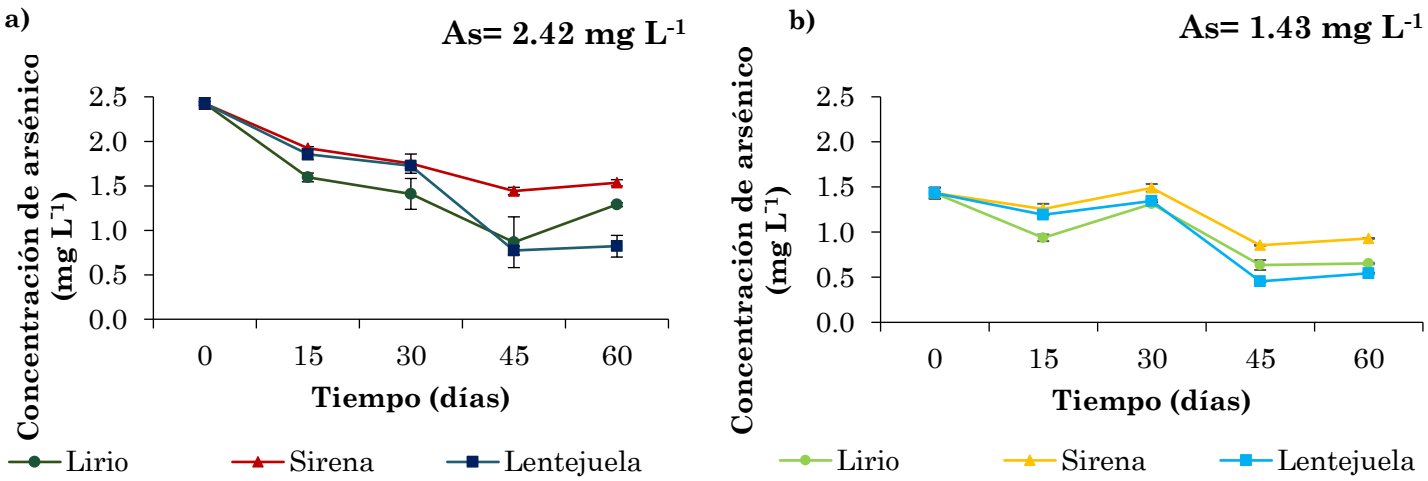


Figura 16. Remoción de arsénico en el agua mediante las tres especies vegetales, a) concentración inicial de 2.42 mg/L (alta concentración) y b) concentración inicial de 1.43 mg/L (baja concentración).

Eichhornia crassipes (lirio) *Myriophyllum aquaticum* (sirena) *Wolffia columbiana* (lentejuela)

En la **Figura 16 a)** se observa la remoción de arsénico, mediante *Eichhornia crassipes,* se logró una eficiencia del 65 %, la concentración en el agua era de 0.86 mg/L, sin embargo, a los 60 días la eficiencia disminuyó 9 % debido a la desorción de arsénico en el agua. Al emplear *Myriophyllum aquaticum* se obtuvo la menor eficiencia en la remoción de As, con solo 43 %. La mayor eliminación de As fue al utilizar *Wolffia columbiana*, la concentración en el agua disminuyó a 0.77 mg/L, lo que indica una eficiencia del 69 %. Todas las eficiencias se lograron a los 45 días de tiempo de contacto.

En el experimento a baja concentración, la mayor remoción de As se observó a los 45 días, porque a los 60 días la concentración en el agua se incrementó, obteniendo una remoción final del 56 % al utilizar *Eichhornia crassipes*, mientras que con *Myriophyllum aquaticum* se consiguió un 41 % de eficiencia. El 69 % fue la mejor eficiencia alcanzada para remover As y fue mediante *Wolffia columbiana*. A pesar de estar expuesta en agua de menor concentración su remoción es similar a las obtenidas en la alta concentración, a excepción de *Eichhornia crassipes* que su eficiencia disminuyó un 10 % en el agua de baja concentración. Al comparar las concentraciones finales del agua, con respecto a los límites máximos permisibles de la NOM-001 (DOF, 1996), no se cumplió estar por debajo de los límites establecidos para descargas de agua residuales en aguas y bienes nacionales.

La serie de eficiencia en la remoción de arsénico, mediante las especies se observó como *Wolffia columbiana* (lentejuela) < *Eichhornia crassipes* (lirio) < *Myriophyllum aquaticum* (sirena).

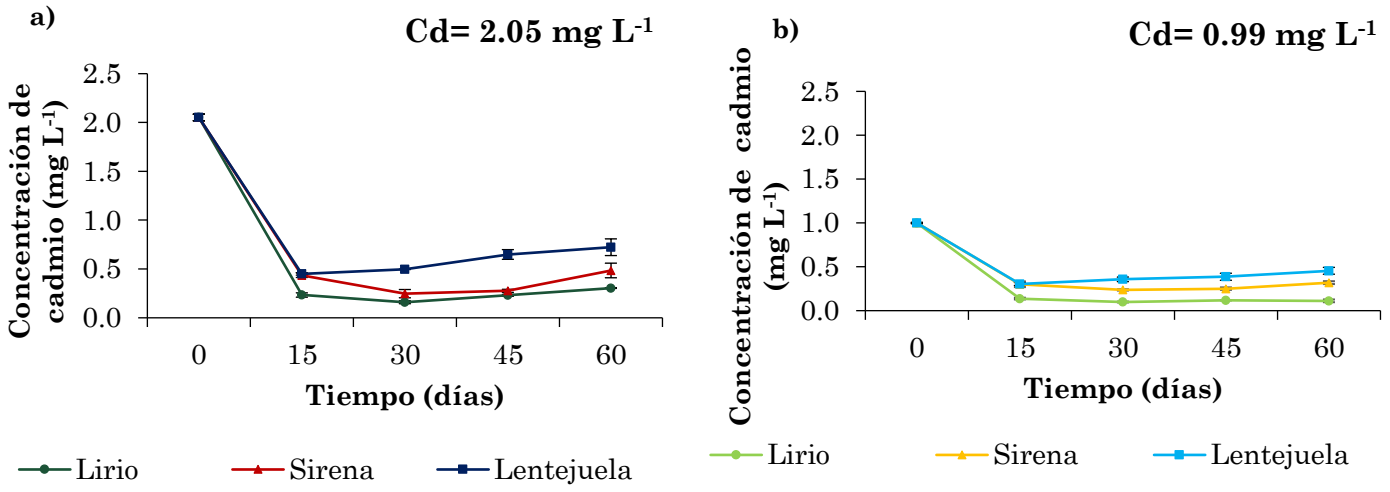


Figura 17. Remoción de cadmio en el agua mediante las tres especies vegetales, a) concentración inicial de 2.05 mg/L (alta concentración) y b) concentración inicial de 0.99 mg/L (baja concentración).

Eichhornia crassipes (lirio) *Myriophyllum aquaticum* (sirena) *Wolffia columbiana* (lentejuela)

Mediante *Eichhornia crassipes* la concentración en el agua disminuyó significativamente a 0.23 mg/L en 15 días y a los 30 días se logró la mayor eficiencia (92 %), después de este periodo se presentó un ligero incremento en la concentración, sin embargo, en 60 días se cuantificó una eficiencia del 85 %. La mayor remoción de Cd utilizando *Myriophyllum aquaticum* fue del 88 % en un periodo de 30 días, a partir de ese tiempo hubo un incremento en la concentración del agua. Empleando la lentejuela solo se presentó una remoción del 78 % en 15 días, después de este tiempo la concentración de Cd también aumentó.

En la Figura 17 **b)** se observa la misma tendencia en la remoción de Cd al estar en baja o alta concentración, sin embargo, las eficiencias logradas mediante lirio, sirena y lentejuela fueron del 90 %, 76 % y 70 %, respectivamente, en el mismo periodo de tiempo. Las eficiencias disminuyeron al estar el Cd en baja concentración. Mishra y Tripathi (2009) informaron que al exponer a *Eichhornia crassipes* a una solución de 1 y 10 mg/L de Zn, el porcentaje de remoción fue del 94 % y 95 %, respectivamente, y al igual que en esta investigación la eficiencia en la remoción del metal fue inferior cuando las especies estuvieron expuestas a una menor concentración de Cd, debido a la alta afinidad del Cd con metalotioneína con la cual forma complejos para el secuestro en la planta (Joseph, 2009).

La serie de eficiencia para remover cadmio del agua mediante los ejemplares se observó cómo *Eichhornia crassipes* (lirio) < *Myriophyllum aquaticum* (sirena) < *Wolffia columbiana* (lentejuela).

Con los ejemplares lirio y sirena se logró que la concentración del agua estuviera por debajo de los límites máximos permisibles que establece la NOM-001 (DOF, 1996), mientras que la concentración del agua en la que estuvo expuesta la lentejuela estaba por arriba de los límites establecidos para descargas de agua residuales en aguas y bienes nacionales.

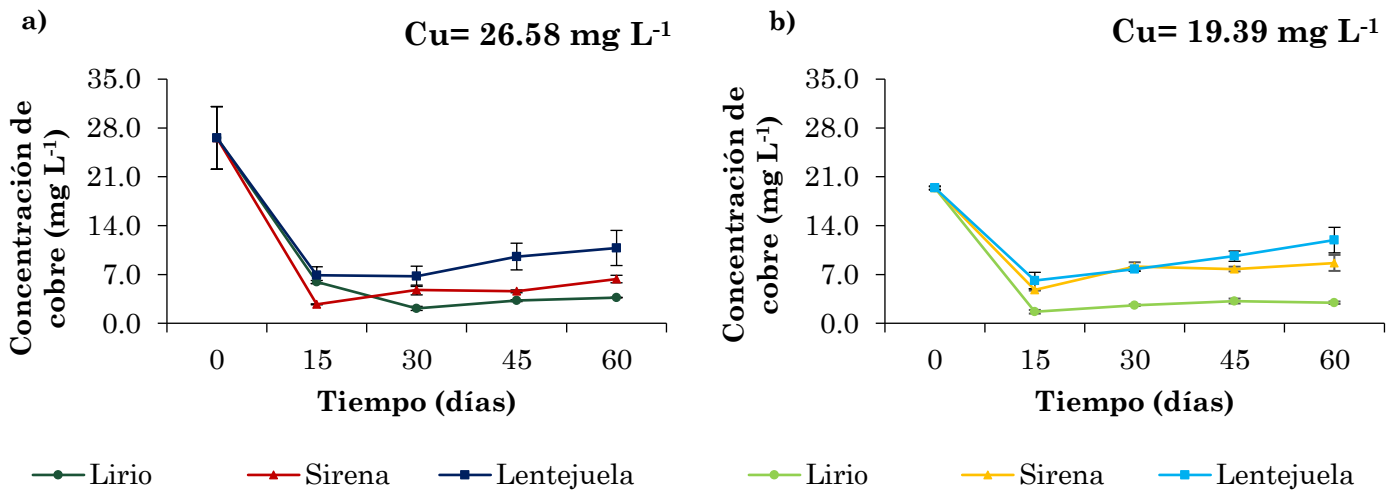


Figura 18. Remoción de cobre en el agua mediante las tres especies vegetales, a) concentración inicial de 26.58 mg/L (alta concentración) y b) concentración inicial de 19.39 mg/L (baja concentración).

Eichhornia crassipes (lirio) *Myriophyllum aquaticum* (sirena) *Wolffia columbiana* (lentejuela)

Empleando al lirio la concentración de Cu en el agua disminuyó a 2.1 mg/L lo que representa una eficiencia del 92 % en 30 días, al final del proceso la concentración en el agua incrementó y se consiguió una remoción del Cu en un 86 %. Con *Myriophyllum aquaticum* se alcanzó a eliminar el 90 % de Cu en 15 días, sin embargo, se observó que a los 60 días la concentración de Cu en el agua había aumentado aproximadamente dos veces. El agua en la que fue expuesta *Wolffia columbiana* presentó la mayor concentración (6.7 mg Cu/L) en 30 días.

Se muestra en la Figura 18 **b)** que a los 15 días se logró la mejor remoción de Cu mediante las tres especies y después de este de tiempo de contacto, la concentración en el agua incrementó, indicando una probable desorción de Cu, debido a la saturación, probablemente por la desfoliación parcial de las plantas que se observó. Las eficiencias alcanzadas en la remoción de Cu al emplear *Eichhornia crassipes* , *Myriophyllum aquaticum* y *Wolffia columbiana* fueron del 92 %, 75 % y 69 %, en los resultados de Romero-Hernández *et al.* (2017), también se observó desorción de Cu en el agua, al exponer durante 7 días a *Eichhornia crassipes* en agua con concentración inicial de 1.0 mg/L, por lo que su eficiencia disminuyó un 6 % después de 5 días. Al comparar las concentraciones iniciales del agua residual, en la alta concentración (26.58 mg/L) se consiguieron las mejores eficiencias. Aplicando *Eichhornia crassipes y Myriophyllum aquaticum* se logró que la concentración de Cu en el agua estuviera por debajo de los límites de que establece la NOM-001 (DOF, 1996), para descargas de aguas residuales en aguas y bienes naturales; esto no ocurrió con *Wolffia columbiana.*

La línea de tendencia en la capacidad de fitoextraer Cu del agua mediante las especies estudiadas fue *Eichhornia crassipes* (lirio) < *Myriophyllum aquaticum* (sirena) < *Wolffia columbiana* (lentejuela).

Es probable que la mejor capacidad de eliminar Cd y Cu mediante E*ichhornia crassipes* se deba a que posee una raíz más abundante, densa y fibrosa y por lo tanto mayor superficie de contacto que las raíces de *Myriophyllum aquaticum* y *Wolffia columbiana* (Mant *et al*., 2006). Es posible que al final de la fitoextracción, la proporción de As (III) superó a la de As (V), demostrando que la forma pentavalente fue absorbida en mayor cantidad por las plantas, y los contenidos no absorbidos correspondieron a los de As (III).

*Medio ácido con mezcla de contaminantes

La remoción de arsénico, cadmio y cobre en medio ácido, a través del tiempo se muestra en la Figura 19, Figura 20 y Figura 21 respectivamente.

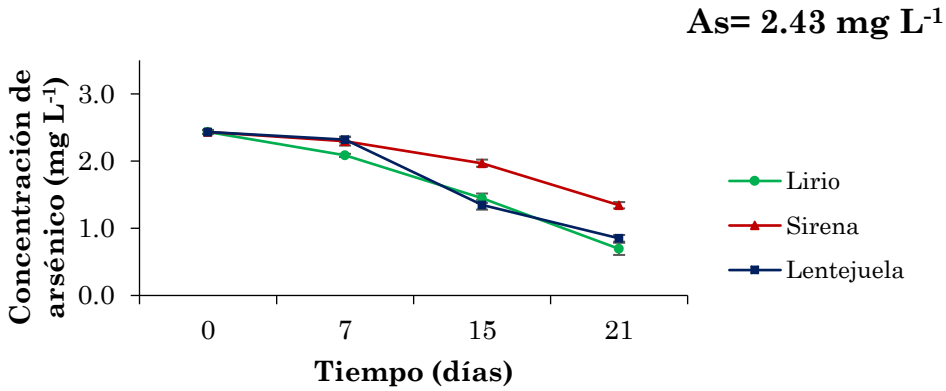


Figura 19. Remoción de arsénico en el agua en un pH ácido, mediante las tres especies vegetales *Eichhornia crassipes* (lirio) *Myriophyllum aquaticum* (sirena) *Wolffia columbiana* (lentejuela)

La remoción de arsénico en el agua mediante *Eichhornia crassipes*, fue del 72 % en 21 días con una concentración en el agua de 0.69 mg/L. en el experimento con *Myriophyllum aquaticum* se observó que a los 21 días disminuyó la concentración en el agua (1.34 mg/L). Al emplear *Wolffia columbiana* se consiguió la menor concentración de arsénico con un valor de 0.85 mg/L, y una eficiencia de remoción del 65 %. Saraswat y Rai (2010), estudiaron la fitoextracción de Cd, Cr y Zn en *Eichhornia crassipes* al exponerla a un pH de 5, durante 120 minutos, se obtuvieron las mejores eficiencias en la remoción de metales, y al igual que está experimentación, se eliminó As con mayor facilidad que al estar en medio neutro.

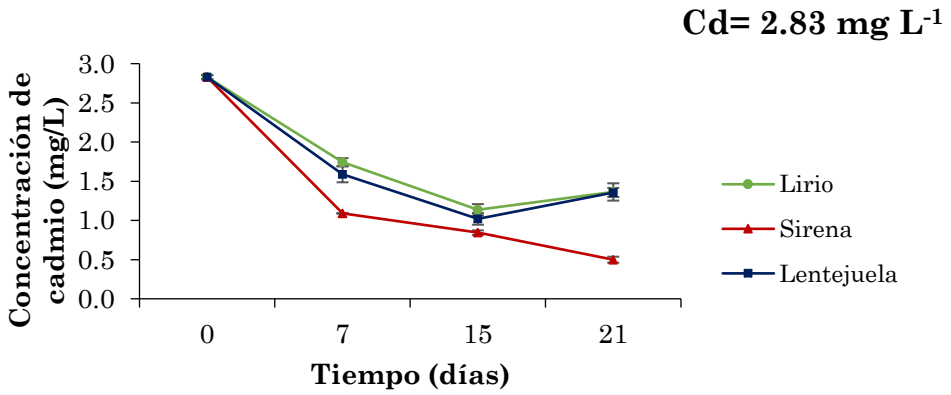


Figura 20. Remoción de cadmio en el agua en un pH ácido, mediante las tres especies vegetales *Eichhornia crassipes* (lirio) *Myriophyllum aquaticum* (sirena) *Wolffia columbiana* (lentejuela)

En 15 días se eliminó el 61 % de Cd mediante *Eichhornia crassipes* la concentración en el agua era de 1.1 mg/L, sin embargo, a los 21 días se presentó un incremento de 0.2 mg/L. Al emplear *Myriophyllum aquaticum* se consiguió obtener la mejor eficiencia (82 %) en la remoción de Cd, en 21 días. Se observó que *Wolffia columbiana* se eliminó el Cd en un 65 % de eficiencia.

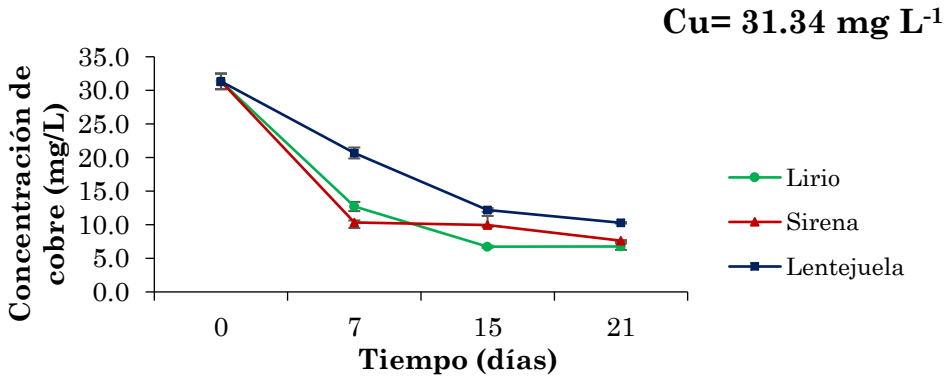


Figura 21. Remoción de cobre en el agua en un pH ácido, mediante las tres especies vegetales *Eichhornia crassipes* (lirio) *Myriophyllum aquaticum* (sirena) *Wolffia columbiana* (lentejuela)

Al eliminar Cu del agua no hubo incrementos en su concentración, indicando que no hay desorción de este elemento, al estar en medio ácido. Se presentó una eficiencia del 79 % con una concentración de 6.7 mg Cu/L al emplear *Eichhornia crassipes*. Se consiguió remover el Cu en un 75 % mediante *Myriophyllum aquaticum*, y su concentración final era de 7.6 mg/L en 21 días. Con *Wolffia columbiana* solo se eliminó el 68 %, al final el agua tenía una concentración de 10.3 mg/L.

*Contaminantes solos a pH neutro

En la Figura 22 se muestran los resultados de la remoción de arsénico en el agua sintética, a través del tiempo, para las tres especies vegetales utilizadas, en la experimentación en la cual no estaba mezclado y estaba en un medio neutro.

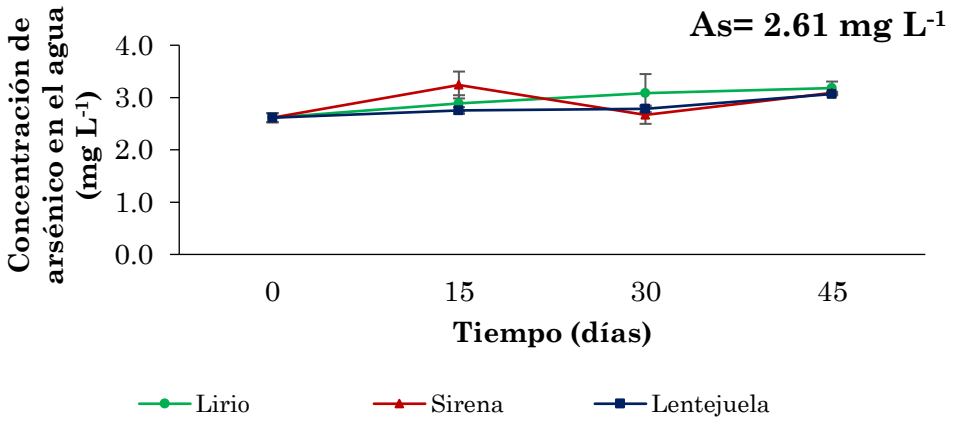


Figura 22. Remoción de arsénico sin estar en mezcla, mediante las tres especies vegetales *Eichhornia crassipes* (lirio) *Myriophyllum aquaticum* (sirena) *Wolffia columbiana* (lentejuela)

Las concentraciones finales en las muestras de agua de As no fueron significativamente diferentes de las concentraciones iniciales. No se observó una alta remoción de arsénico en el agua, probablemente por no haber interacción con cadmio y cobre, o con alguna otra especie del agua residual, esto se observa empleando las tres especies vegetales. Demostrando que la remoción de arsénico se ve favorecida al estar en contacto con otras especies, y considerando que el agua a la que fueron expuestas las especies era sintética. Valles-Aragón y Alarcón-Herrera (2014) emplearon las especies *Eleocharis macrostachya* y *Schoenoplectus americanus*, para remover As de agua sintética en un humedal artificial durante 343 días, en sus resultados demostraron que sólo el 1 % del As suministrado, fue retenido por las especies vegetales.

Los resultados de la remoción de cadmio a través del tiempo, en la experimentación en la cual no estaba mezclado y tenía pH neutro, se muestran en la Figura 23.

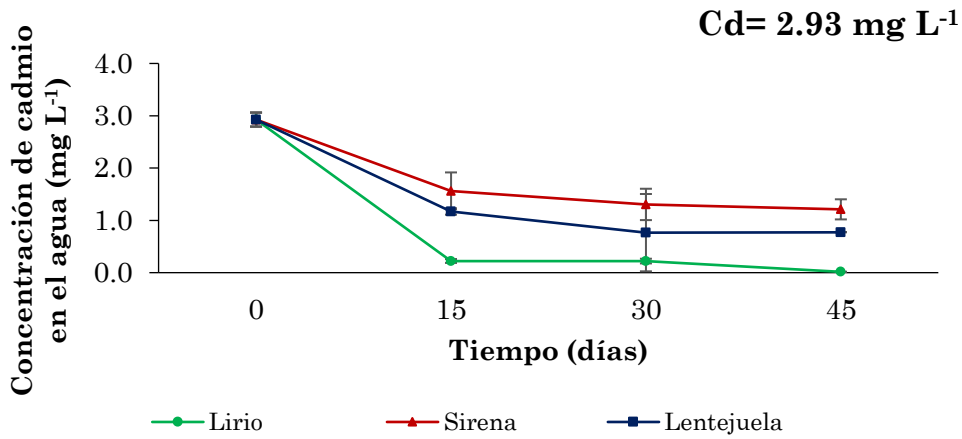


Figura 23. Remoción de cadmio sin estar en mezcla, mediante las tres especies vegetales *Eichhornia crassipes* (lirio) *Myriophyllum aquaticum* (sirena) *Wolffia columbiana* (lentejuela)

Se consiguió remover el 99 % de Cd en 45 días al emplear *Eichhornia crassipes* con *Myriophyllum aquaticum* se obtuvo una concentración final de 1.2 mg/L en el agua. Utilizando *Wolffia columbiana* se alcanzó una remoción del 73 %, con una concentración en el agua de 0.77 mg Cd/L.

Aplicando *Eichhornia crassipes* se logró que la concentración de Cd en el agua estuviera por debajo de los límites de que establece la NOM-001 (DOF, 1996), para descargas de aguas residuales en aguas y bienes naturales; esto no ocurrió con las otras dos especies.

Se puede observar en la Figura 24, la tasa de remoción de cobre, para las tres especies vegetales empleadas, en la experimentación en la cual había mezcla de contaminantes y se tenía un medio neutro.

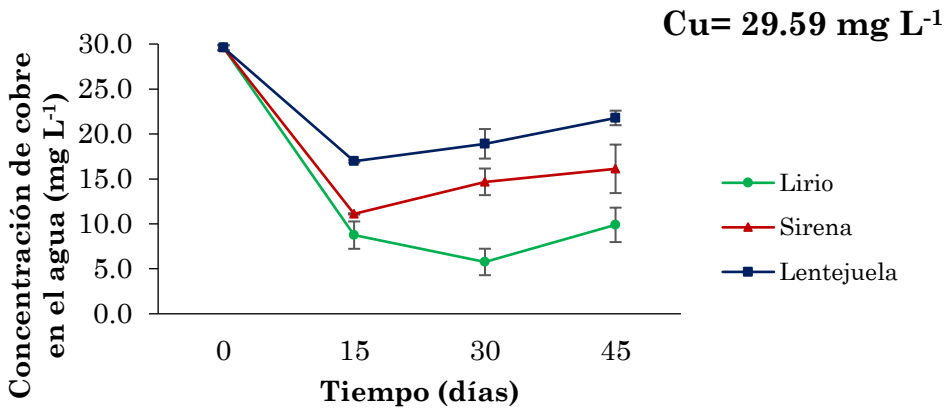


Figura 24. Remoción de cobre sin estar en mezcla, mediante las tres especies vegetales *Eichhornia crassipes* (lirio) *Myriophyllum aquaticum* (sirena) *Wolffia columbiana* (lentejuela)

Al usar lirio se observó que a los 30 días la remoción de Cu alcanzó su máximo valor, al tener una concentración de 5.7 mg/L y una eficiencia del 80 %, después de este tiempo se observó un incremento en la concentración del agua con una diferencia de 4 mg/L con respecto a la concentración en el tiempo de 30 días.

Las eficiencias en la remoción de Cu, mediante sirena y lentejuela fueron del 63 % y 43 %, respectivamente, en ambas especies se observó que a partir de los 15 días hay una disminución en la tasa de eliminación de Cu, lo que sugiere que hubo una desorción probablemente debido a la saturación en la raíz de las plantas.

Las especies *Eichhornia crassipes*, *Myriophyllum aquaticum* y *Wolffia columbiana* son plantas idóneas para la fitoextracción de arsénico, cadmio y cobre de agua residual y sintética, se resumen en la Tabla 10 las eficiencias máximas obtenidas durante el proceso a las diferentes condiciones expuestas.

Tabla 10. Resumen de las eficiencias máximas obtenidas en la fitoextracción de arsénico, cadmio y cobre

		Eficiencia máxima de remoción		
Condición	**Concentración inicial (mg/L)**	***Eichhornia crassipes* (lirio)**	***Myriophyllum aquaticum* (sirena)**	***Wolffia columbiana* (lentejuela)**
Mezcla de contaminantes medio neutro	As= 2.42	65 %	43 %	69 %
Mezcla de contaminantes medio ácido	As= 2.43	72 %	45 %	65 %
Contaminantes solos medio neutro	As= 2.61	< 3 %	< 3 %	< 3 %
Mezcla de contaminantes medio neutro	Cd= 2.05	92 %	88 %	78 %
Mezcla de contaminantes medio ácido	Cd= 2.83	61 %	82 %	65 %
Contaminantes solos medio neutro	Cd= 2.93	99 %	60 %	73 %
Mezcla de contaminantes medio neutro	Cu= 26.58	92 %	90 %	75 %
Mezcla de contaminantes medio ácido	Cu= 31.34	79 %	75 %	68 %
Contaminantes solos medio neutro	Cu= 29.59	80 %	63 %	43 %

Concentración de metales en el tejido vegetal

Los resultados de las concentraciones en el tejido vegetal (base seca), así como el factor de bioconcentración (FBC) y el factor de translocación (FT) se presentan en la Tabla 11. Corresponden a la experimentación de pH neutro y mezcla de contaminantes.

Tabla 11. Concentración, FBC y FT de arsénico, cadmio y cobre en las especies vegetales, al estar los contaminantes en mezcla y a pH neutro

Concentración inicial	Concentración (mg/kg)			Factor de Bioconcentración (FBC)			Factor de Translocación (FT)
(mg/L)	Parte Aérea	Raíz	Total	Parte Aérea	Raíz	Total	
Eichhornia	***crassipes***						
As 2.42	**37.1**±0.7	**137.5**±2.5	**174.7**±3.2	**0.15**±0.0	**0.57**±0.0	**0.72**±0.0	**0.27**±0.0
Cd 2.05	**282.1**±69.3	**1118.6**±69.9	**1400.7**±139.2	**1.37**±0.3	**5.50**±0.3	**6.83**±0.6	**0.25**±0.0
Cu 26.58	**1737.2**±273.3	**8243.4**±896.7	**9980.6**±823.5	**0.65**±0.1	**3.10**±0.3	**3.75**±0.3	**0.21**±0.1
As 1.43	**14.6**±2.0	**79.2**±16.5	**93.8**±18.5	**0.10**±0.0	**0.55**±0.1	**0.65**±0.1	**0.19**±0.0
Cd 0.99	**95.8**±2.8	**250.0**±19.2	**345.8**±22.0	**0.96**±0.2	**2.50**±0.4	**3.46**±0.2	**0.38**±0.0
Cu 19.39	**1745.8**±247.8	**7200.9**±944.6	**8946.7**±696.8	**0.90**±0.1	**3.71**±0.4	**4.61**±0.4	**0.25**±0.1
Myriophyllum	***aquaticum***						
As 2.42	**26.2**±2.7	**41.7**±6.5	**67.9**±9.2	**0.11**±0.0	**0.17**±0.0	**0.28**±0.0	**0.64**±0.0
Cd 2.05	**696.3**±73.7	**1635.2**±43.5	**2331.5**±30.3	**3.39**±0.4	**7.97**±0.2	**11.36**±0.1	**0.43**±0.1
Cu 26.58	**4378.2**±273.3	**9210.6**±896.7	**13588.8**±3982.7	**1.65**±0.1	**3.47**±0.3	**5.11**±1.5	**0.48**±0.1
As 1.43	**8.4**±0.8	**29.7**±13.1	**38.1**±12.3	**0.06**±0.0	**0.21**±0.1	**0.27**±0.1	**0.27**±0.1
Cd 0.99	**418.9**±50.9	**1010.7**±6.9	**1429.6**±57.8	**4.19**±0.2	**10.12**±0.5	**14.34**±0.6	**0.41**±0.0
Cu 19.39	**5440.2**±109.9	**11310.2**±441.6	**16750.4**±568.2	**2.81**±0.5	**5.83**±0.2	**8.64**±0.3	**0.49**±0.1
Wolffia	***columbiana***						
As 2.42			**294.9**±20.9			**2.06**±0.0	
Cd 2.05			**745.1**±27.8			**8.69**±0.3	
Cu 26.58			**10040.1**±642.1			**4.34**±0.8	
As 1.43			**198.4**±1.8			**0.82**±0.1	
Cd 0.99			**868.1**±26.4			**3.63**±0.1	
Cu 19.39			**8409.6**±162.9			**3.78**±0.8	

*Los experimentos realizados con la especie *Wolffia columbiana* se analizaron en la totalidad de la planta debido a sus características morfológicas.

Eichhornia crassipes y *Myriophyllum aquaticum* tuvieron la mayor acumulación de cadmio y cobre en sus raíces, aproximadamente dos veces más que en la parte aérea. Las concentraciones más altas de los metales pesados están presentes en el sistema radical que en la parte aérea (brotes), probablemente porque las raíces son el primer órgano en ponerse en contacto con los contaminantes (Eid y Shaltout, 2014). Newte *et al*. (2016) informaron que más del 80% de la cantidad total de metales (As, Cu, Hg) que removieron del agua por *Eichhornia crassipes*, se localizó en las raíces.

La biomasa final de *Myriophyllum aquaticum* acumuló la mayor concentración de cadmio y cobre (2300 y 13500 mg/kg respectivamente) que la biomasa de *Eichhornia crassipes* (1400 mg Cd/kg y 9900 mg Cu/kg) y *Wolffia columbiana* (745 mg Cd/kg y 10000 mg Cu/kg). Jutsz y Gnida (2015) reportaron altas concentraciones de Cd en *Thlaspi caerulescens*, entre 1800 y 1900 mg/kg, mientras que Wu *et al*. (2019) informaron de una acumulación de 6800 mg Cu/kg las raíces de *Phragmites australis.*

La mayor concentración de arsénico fue en la biomasa de *Wolffia columbiana (*294.9 mg/kg), mientras que *Myriophyllum aquaticum* (67.9 mg/kg) fue la especie que menor acumulación de arsénico presentó. Pell *et al*. (2013) informaron que las especies acuáticas *Potamogeton pectinatus y Azolla sp,* presentaron concentraciones de 20 y 199 mg/kg de arsénico, respectivamente. Srivastava *et al*. (2014) expusieron a las especies *Hydrilla verticillata*, *Ceratophyllum demersum*, *Lemna minor*, *Wolffia globosa* y *Eichhornia crassipes*, a una solución de 2500 µg/L, las especies lograron acumular 892, 489, 377, 354 y 145 mg As/kg, respectivamente, de igual modo la especie *Wolffia globosa,* tuvo mayor capacidad de acumular As, que la especie *Eichhornia crassipes.*

El Cu se encontró en mayor concentración en las tres especies, considerando que los ejemplares fueron expuestos a concentraciones de Cu 10 veces mayores que las concentraciones iniciales de As y Cd, pero hay que tomar en cuenta que estos dos contaminantes son aproximadamente 250 veces más tóxicos que el Cu, de acuerdo con la ATSDR.

El factor de bioconcentración (FBC) y translocación (FT) son importantes al considerar el potencial de fitorremediación de una especie. Eid *et al*. (2019) reportaron un FBC>1.0 de Cd y Cu en *Eichhorrnia crassipes*. En este estudio se encontró un FBC superior en la raíz, *Myriophyllum aquaticum* presentó el más alto valor del FBC de cadmio (11.4) y cobre (5.1) que las especies *Eichhornia crassipes* (6.8 y 3.8) y *Wolffia columbiana* (8.7 y 4.4).

Las especies resultaron ser hiperacumuladoras de Cd y Cu, porque sus valores del FBC son mayores a 1.0 y además superaron el 0.1% en biomasa seca.) El FBC de Cu en *Eichhornia crassipes* y *Myriophyllum aquaticum* fue de 18.7 y 8.66, respectivamente (Romero-Hernández *et al.*, 2017). De acuerdo con el FBC de arsénico en *Wolffia columbiana, Eichhornia crassipes* y *Myriophyllum aquaticum* de 2.06, 0.72 y 0.28, respectivamente, las especies son solamente tolerantes de arsénico, porque los valores están en el intervalo de 0.1 a 1.0.

Se observó que *Myriophyllum aquaticum* tuvo la mayor capacidad de distribuir de forma homogénea los contaminantes en toda la planta, porque presentó un factor de translocación (FT) dos veces mayor al de *Eichhornia crassipes*, por ejemplo, al transportar Cu se obtuvo un FT de 0.48 en *Myriophyllum aquaticum,* y 0.21 al emplear *Eichhornia crassipes*. Romero-Hernández *et al*. (2017) informaron que las especies *Eichhornia crassipes y Myriophyllum aquaticum,* mostraron factores de translocación de 0.051 y 0.299, respectivamente, para el cobre. La translocación de los contaminantes podría ser un mecanismo de tolerancia de las plantas acuáticas (Weis y Weis, 2004).

*A*l comparar las concentraciones en la biomasa de los ejemplares, con respecto a límites máximos permisibles para los constituyentes tóxicos en el extracto PECT (5 mg As/L, 1.0 mg Cd/L), establecidas por la normatividad mexicana (DOF, 2005) las especies vegetales son residuos peligrosos por tener concentraciones de Cd que rebasan estos límites, las concentraciones de arsénico se encontraban por debajo de los límites permisibles.

Los resultados de la concentración final de la fitoextracción, en el tejido vegetal (base seca), se muestran en la Tabla 12, así como el factor de bioconcentración (FBC) y el factor de translocación (FT). Corresponden a la experimentación de pH ácido y mezcla de contaminantes.

Tabla 12. Concentración, FBC y FT de arsénico, cadmio y cobre, de las especies vegetales a pH ácido

Concentración inicial	Concentración (mg/kg)			Factor de Bioconcentración (FBC)			Factor de Translocación (FT)
(mg/L)	Parte Aérea	Raíz	Total	Parte Aérea	Raíz	Total	
Eichhornia	***crassipes***						
As 2.43	**476.8**±10.7	**587.5**±112.0	**1064.3**±101.4	**2.0**±0.0	**2.4**±0.5	**4.4**±0.4	**0.85**±0.2
Cd 2.83	**667.9**±65.5	**439.4**±12.4	**1107.3**±53.1	**2.4**±0.2	**1.6**±0.0	**3.9**±0.2	**1.53**±0.2
Cu 31.34	**4330.8**±290.3	**5946.7**±482.8	**10277.5**±192.6	**1.4**±0.1	**1.9**±0.2	**3.3**±0.1	**0.74**±0.1
Myriophyllum	***aquaticum***						
As 2.43	**25.4**±1.6	**235.3**±53.2	**260.7**±51.6	**0.1**±0.0	**1.0**±0.2	**1.1**±0.2	**0.12**±0.0
Cd 2.83	**234.1**±27.5	**1805.9**±221.0	**2040.1**±248.5	**0.8**±0.1	**6.4**±0.8	**7.2**±0.9	**0.13**±0.0
Cu 31.34	**1190.5**±130.3	**9971.4**±1047.3	**11161.9**±1177.6	**0.4**±0.0	**3.2**±0.3	**3.6**±0.4	**0.12**±0.0
Wolffia	***columbiana***						
As 2.43			**697.8**±30.6			**2.9**±0.1	
Cd 2.83			**996.6**±106.6			**3.5**±0.4	
Cu 31.34			**11362.1**±1747.8			**3.6**±0.6	

Al tener los contaminantes mezclados y un medio ácido, se observó que la concentración de As, Cd y Cu en la biomasa de *Eichhornia crassipes*, fue aproximadamente la misma en su sistema radicular como en sus órganos superiores, sin embargo, éstos resultados difieren al estar en medio neutro, ya que ahí se presentó una mayor acumulación en la raíz. *Myriophyllum aquaticum* mostró un comportamiento opuesto, porque la concentración en la parte aérea (234 mg Cd/kg) de la planta es casi la décima parte que la concentración en su raíz (1805 mg Cd/kg). Los factores de translocación indicaron que *Eichhornia crassipes* transportó mayor cantidad de Cd (1.53) pero en menores cantidades As (0.85) y Cu (0.74), y se nota que *Myriophyllum aquaticum* los distribuye con mayor dificultad presentando un FT de 0.12 aproximadamente para los tres contaminantes. Eid y Shaltout (2014) mostraron que el factor de translocación más alto fue en Cd (1.03) al emplear *Phragmites australis*, mientras que el factor de translocación más bajo fue para Cu (0.8).

Las mayores concentraciones reportadas en esta experimentación eran de 1064 mg As/kg, 2040 mg Cd/kg, y 11362 mg Cu/kg, y fueron acumuladas en la biomasa de las especies *Eichhornia crassipes, Myriophyllum aquaticum* y *Wolffia columbiana,* respectivamente. La biomasa de los ejemplares de las tres especies es un residuo peligroso, porque sus concentraciones de As, Cd se encontraban por arriba los límites máximos permisibles para los constituyentes tóxicos en el extracto PECT de la NOM-052 (5 mg As/L; 1.0 mg Cd/L), establecidas por la normativa mexicana (DOF, 2005).

Las tres especies, contenían una cantidad significativa de cobre (superior a los 10000 mg/kg), probablemente porque es un elemento esencial para su crecimiento. Romero-Hernández *et al.* (2017) estudiaron la fitoextracción en *Eichhornia crassipes y Myriophyllum aquaticum,* reportaron que la mayor cantidad de metal en su tejido vegetal fue de cobre, al estar mezclado con mercurio, plomo y zinc.

Se cuantificaron valores del FBC>1.0 para As, Cd y Cu, en la totalidad de las plantas y así mismo se superó el 0.1 % de biomasa en base seca en los ejemplares, lo que significa que las tres especies son hiperacumuladoras de As, Cd y Cu al estar expuestas en un medio ácido. Hay que tomar en cuenta que, al estar en medio ácido, se observó un efecto desfavorable en la morfología de las plantas, lo que induce a un estrés.

Se presentan en la Tabla 13 las concentraciones en las especies vegetales (base seca), el factor de bioconcentración (FBC) y el factor de translocación (FT). Corresponden a la experimentación de pH neutro y arsénico solo (agua sintética).

Tabla 13. Concentración, FBC y FT de arsénico en la parte aérea y raíz de las especies vegetales

Especie	Concentración (mg/kg)			Factor de Bioconcentración (FBC)			Factor de Translocación (FT)
	Parte Aérea	Raíz	Total	Parte Aérea	Raíz	Total	
Eichhornia crassipes	**86.0**±5.7	**27.3**±8.5	**113.3**±48.9	**0.3**±0.0	**0.1**±0.0	**0.4**±0.1	**4.2**±1.4
Myriophyllum aquaticum	**4.9**±0.0	**0.0**±0.0	**4.8**±0.0	**0.0**±0.0	**0.0**±0.0	**0.0**±0.0	
Wolffia columbiana			**58.2**±2.6			**0.2**±0.0	

La mayor retención de As fue en la biomasa de *Eichhornia crassipes* (113 mg/kg) y *Myriophyllum aquaticum* fue la especie que menor contenido acumuló (4.8 mg/kg). Se observó una distribución eficaz de As en ambas especies ya que la mayor concentración estaba en su parte aérea y se tiene un factor de translocación mayor a 4. De acuerdo con los resultados de Pell *et al*. (2013) *Myriophyllum aquaticum* contenía 293 mg As/kg, mayor contenido de arsénico, mientras que la especie que menor concentración presentó fue *Ruppia filifolia* con 23 mg As/kg. Zhang *et al*. (2009) expusieron a las especies acuáticas *Azolla filiculoides, Azolla caroliniana, Spirodela polyrhiza, Lemna minor* y *Wolffia globosa*, en agua con concentración de 1 μM de arseniato, y lograron acumular 3.0, 3.5, 12, 13 y 23 mg As/kg, lo que demostró una mayor acumulación por las plantas acuáticas estudiadas.

Las especies resultaron ser solamente tolerantes de arsénico, porque su factor de bioconcentración (FBC) es menor a 1.0. Estos resultados demuestran la incapacidad de las tres especies vegetales por remover As de un agua sintética, en donde no había interacción de este contaminante con algún otro. No se recomienda emplear la fitorremediación en las condiciones mencionadas.

Los resultados de la concentración final de la fitoextracción, en el tejido vegetal (base seca), se muestran en la Tabla 14, así como el factor de bioconcentración (FBC) y el factor de translocación (FT). Corresponden a la experimentación de pH neutro y cadmio solo (agua sintética).

Tabla 14. Concentración, FBC y FT de cadmio en la parte aérea y raíz de las especies vegetales

Especie	Concentración (mg/kg)			Factor de Bioconcentración (FBC)			Factor de Translocación (FT)
	Parte Aérea	Raíz	Total	Parte Aérea	Raíz	Total	
Eichhornia crassipes	**157.8**±42.0	**1404**±297	**1562**±255	**0.5**±0.1	**4.8**±1.0	**5.3**±0.9	**0.12**±0.1
*Myriophyllum aquaticu*m	**52.8**±5.8	**598**±4.7	**650.8**±10.5	**0.2**±0.0	**2.0**±0.0	**2.2**±0.0	**0.09**±0.0
Wolffia columbiana			**483.9**±57.5			**1.7**±0.2	

El contenido de Cd en las tres plantas fluctuó de 483 a 1562 mg/kg. La biomasa de *Eichhornia crassipes* acumuló la mayor cantidad de Cd con 1562 mg/kg (esta concentración es dos veces mayor a la obtenida por las otras especies). Myr*iophyllum aquaticum* concentró 650 mg/kg y en ambas especies concentraron el 10 % de Cd en sus órganos superiores en comparación a la concentración de sus raíces. *Wolffia columbiana* contenía 484 mg Cd/kg. Yang *et al.* (2014) informaron que el contenido de Cd en la parte aérea de *Sedum alfredii* varío de 254 a 1053 mg/kg. La concentración de Cd en *Brassica napus*, fue mayor en las raíces (2200 mg/kg) que en los brotes (1150 mg/kg) de acuerdo con Benáková *et al. (*2017). Boonyapookana *et al*. (2002), reportaron que *Wolffia globosa*, tuvo alta capacidad para acumular metales 5931 mg Cd/kg y 3500 mg Cr/kg, al ser expuesta a concentraciones de 8 mg/L, está concentración excede 4 veces a la que fueron expuestas las plantas en esta investigación.

Se observaron diferencias en el factor de bioconcentración (FBC), sin embargo, las tres especies resultaron hiperacumuladoras de cadmio, pues tuvieron un FBC>1.0 y su biomasa en base seca fue mayor al 0.1 %. Se observó un FBC significativamente superior en la raíz de *Eichhornia crassipes* y *Myriophyllum aquaticum*, este valor era casi 10 veces más alto que el de parte aérea. Las concentraciones de Cd en la biomasa de la raíz de los ejemplares sobrepasan el límite máximo permisible para los constituyentes tóxicos en el extracto PECT (1.0 mg Cd/L), establecido por la normatividad mexicana (DOF, 2005).

Eichhornia crassipes tuvo mayor capacidad de translocar al Cd desde su raíz hacia los órganos superiores, la diferencia de su FT y el de *Myriophyllum aquaticum* fue de sólo 0.03 unidades. Los factores de translocación disminuyeron significativamente al estar el Cd en el agua sintética y sin interacción con As y Cu. Benáková *et al. (*2017) estudiaron los efectos de Cd y Zn en la fitoextracción mediante *Brassica napus* y cuantificaron un FT mayor de Cd al estar combinado con Zn.

Se presentan en la Tabla 15 las concentraciones en las especies vegetales (base sea), el factor de bioconcentración (FBC) y el factor de translocación (FT). Corresponden a la experimentación de pH neutro y cobre solo (agua sintética).

En la Tabla 15 se observó que la mayor concentración de Cu fue en la biomasa de *Wolffia columbiana* con 5712 mg/kg, *Eichhornia crassipes* acumuló 5157 mg/kg y la biomasa de *Myriophyllum aquaticum* contenía 4227 mg/kg. Wu *et al*. (2019), informaron que *Phragmites australis*, concentró 6873 y 172 mg Cu/kg, en su raíz y parte aérea respectivamente.

Tabla 15. Concentración, FBC y FT de cobre en la parte aérea y raíz de las especies vegetales

	Concentración (mg/kg)			Factor de Bioconcentración (FBC)			Factor de Translocación (FT)
Especie	**Parte Aérea**	**Raíz**	**Total**	**Parte Aérea**	**Raíz**	**Total**	
Eichhornia crassipes	**994.0**±115.4	**4163**±320.7	**5157.1**±205.3	**0.3**±0.0	**1.4**±0.1	**1.7**±0.1	**0.56**±0.0
*Myriophyllum aquaticu*m	**269.5**±15.5	**3958**±990.4	**4227.5**±974.8	**0.1**±0.0	**1.3**±0.3	**1.4**±0.3	**0.07**±0.0
Wolffia columbiana			**5712.8**±679.5			**1.9**±0.2	

En ambas especies, los resultados indican una localización preferencial de Cu en las raíces en comparación con los órganos superiores (tallos y hojas), diferentes estudios indican que los metales pesados se retienen en gran medida en el sistema radicular (Eid *et al.,* 2019; Wu *et al.,* 2019). Kay *et al*. (1984) estudiaron el efecto de los metales sobre *Eichhornia crassipes,* exponiéndola a agua con concentración de 5 mg Cu/L durante 6 semanas *y* encontraron que el 92% de la acumulación de Cu estaba en las raíces de *Eichhornia crassipes.*

La mayor capacidad de transportar cobre desde la raíz hacia la parte superior fue mediante *Eichhornia crassipes* con un factor de translocación (FT) de 0.56, mientras que *Myriophyllum aquaticum* presentó dificultad para transportarlo, porque su FT era de 0.07. El valor del factor de bioconcentración (FBC) en la raíz fue mayor que 1.0 y su biomasa en base seca supero el 0.1 %, por lo que las tres especies son hiperacumuladoras de Cu.

Resultado del Balance de masa

Se observa en la Figura 25 el balance de masa de cobre con la especie *Eichhornia crassipes* en la experimentación en la cual se tenía un pH neutro y mezcla de metales. Al inicio el agua tenía una concentración de 19.39 mg/L de Cu.

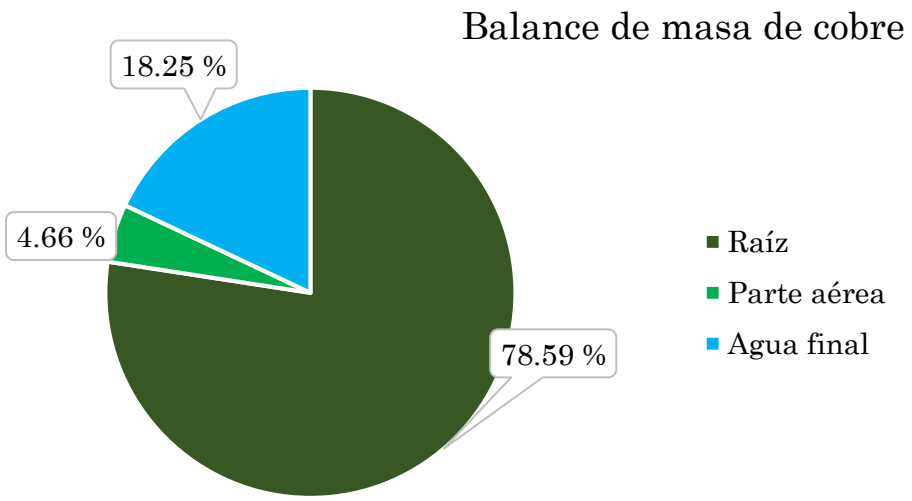


Figura 25. Balance de masa de cobre en *Eichhornia crassipes* estando a pH neutro y mezcla de contaminantes

Se puede observar que la especie *Eichhornia crassipes* acumuló una gran cantidad de cobre en sus raíces, ya que representó casi el 78 % de la inicial, en caso opuesto, su parte aérea solo retuvo un 4 %, demostrando una baja capacidad para translocar el contaminante a tejidos superiores. A los 60 días el agua tenía el 18 % del Cu inicial, lo que indicó un buen proceso de fitoextracción en agua. Kamal *et al.* (2004) observaron que el 39 % de cobre fue absorbido por *Myriophyllum aquaticum* y 60 % se precipitó.

Se muestra en la Figura 26 el balance de masa de arsénico con la especie *Eichhornia crassipes* en la experimentación a pH neutro y con mezcla de metales. Al inicio el agua tenía una concentración de 2.42 mg/L de As.

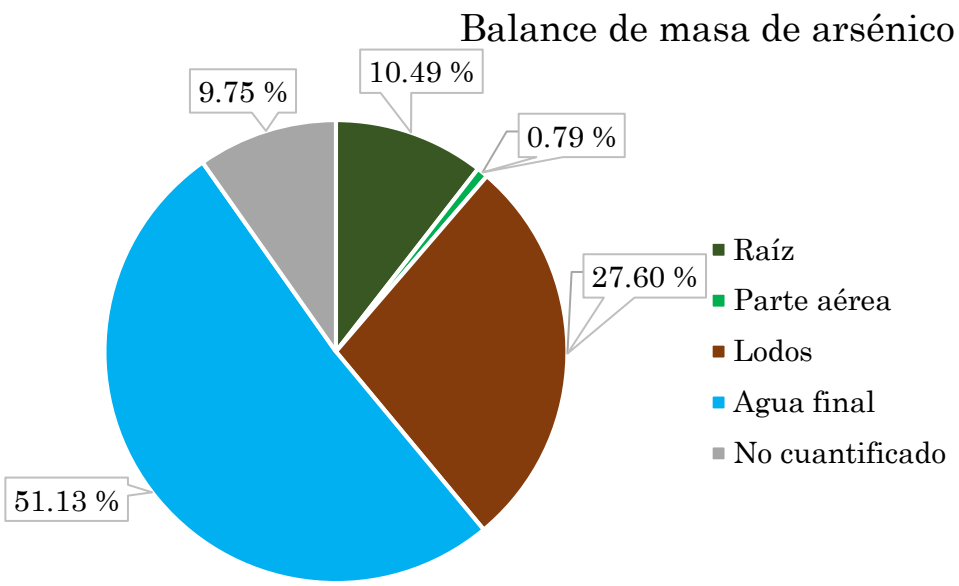


Figura 26. Balance de masa de arsénico en *Eichhornia crassipes* estando a pH neutro y mezcla de contaminantes

Se puede percatar que la cantidad de arsénico en el agua al término de la experimentación fue del 51 % de la inicial, demostrando que la fitoextracción de arsénico en el agua fue poco eficiente, la biomasa de la especie vegetal tenía un 12 % de arsénico y el 27 % de arsénico se precipitó en los lodos, sin embargo, Valles-Aragón y Alarcón-Herrera (2014), reportaron en el balance de masa, que el 73 % de As se encontraba en el sustrato (suelo) y solo 1 % en *Eleocharis macrostachya*.

Se observa en la Figura 27 el balance de masa de cadmio con la especie *Wolffia columbiana* en la experimentación en la cual se tenía un pH ácido y mezcla de metales. Al inicio el agua tenía una concentración de 2.83 mg/L de Cd.

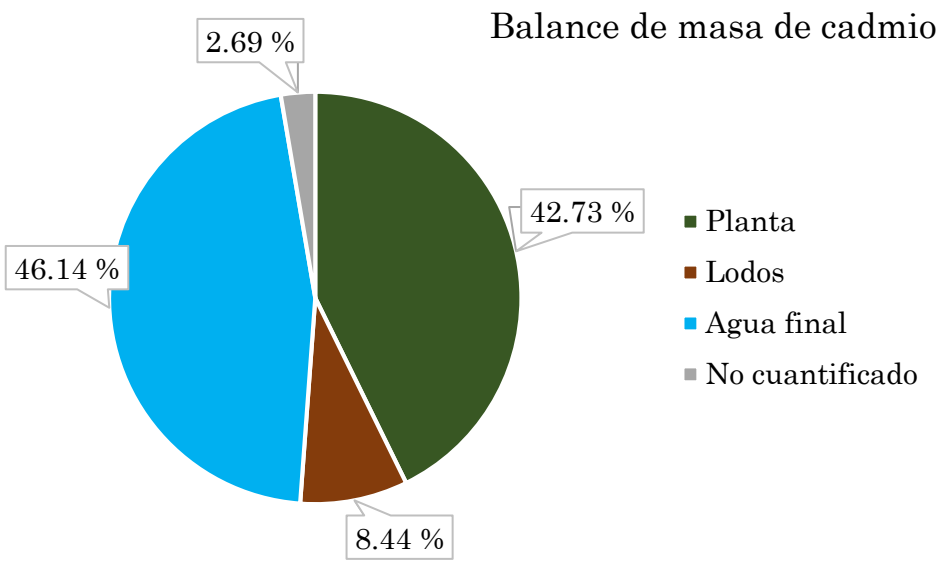


Figura 27. Balance de masa de cadmio en *Wolffia columbiana* estando a pH ácido y mezcla de contaminantes

Se demostró que la cantidad de Cd retenida en el agua al final de la experimentación fue casi igual a la acumulada por la especie vegetal, porque es el 46 % y 43 %, respectivamente. Por la morfología de la especie no se logró diferenciar el contenido de cadmio en la raíz y en el de la parte aérea. El cadmio también estuvo presente en los lodos generados, con un 8 % y se consideró que 3 % de cadmio no fue cuantificado.

Se observa en la Figura 28 el balance de masa de cadmio con la especie *Myriophyllum aquaticum* en la experimentación en la cual se tenía un pH neutro y no estaban mezclados los contaminantes. Al inicio el agua tenía una concentración de 2.93 mg/L de Cd.

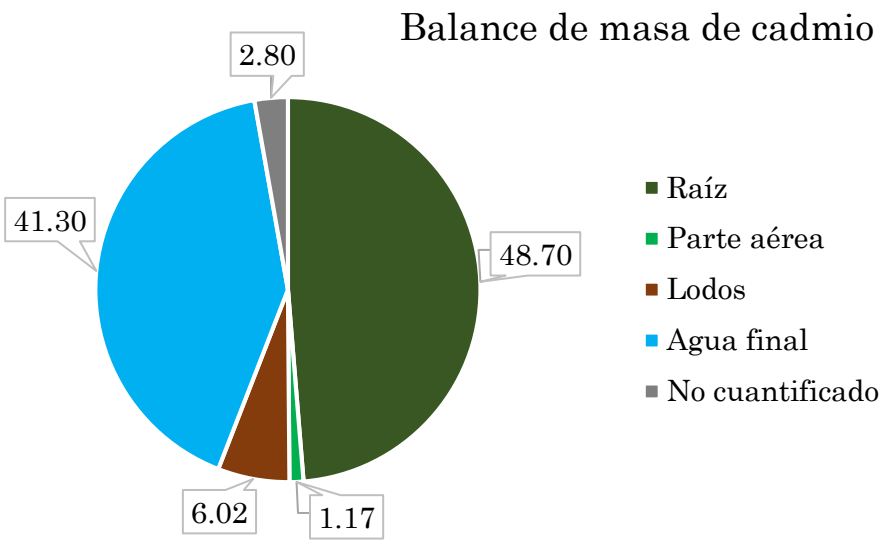


Figura 28. Balance de masa de cadmio en *Myriophyllum aquaticum* estando a pH neutro y cadmio solo

Las raíces de *Myriophyllum aquaticum* lograron acumular un 49 % de la cantidad inicial de cadmio, lo que indicó una alta capacidad de absorber este contaminante, sin embargo, se demostró que en esta experimentación se tuvo una baja capacidad para transportar cadmio hacia sus tejidos superiores ya que en la parte aérea de la planta solo había el 1 % del cadmio inicial. La cantidad de cadmio en el agua al final de la experimentación fue del 41 % con respecto a la inicial. También se observó que en los lodos se acumuló un 6 % de cadmio y no fue cuantificado un 4 %.

Cinética de fitoextracción

La cinética de absorción de cadmio mediante *Eichhornia crassipes* se observa en la Figura 29.

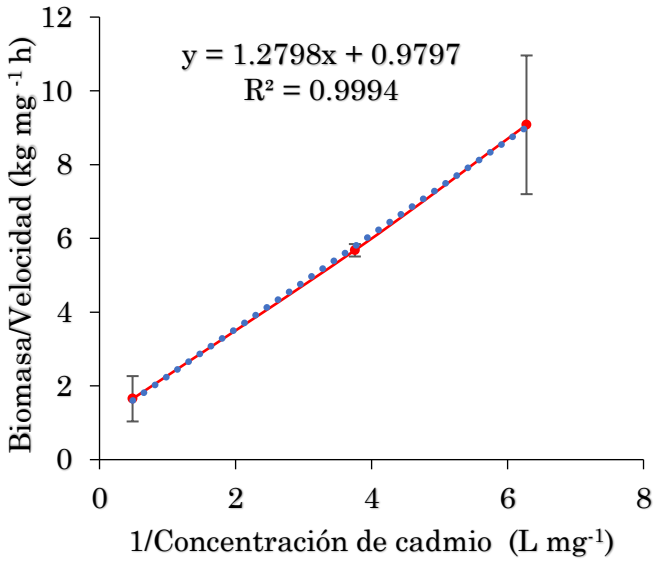


Figura 29. Cinética de fitoextracción en *Eichhornia crassipes* de cadmio

Se observó un buen ajuste de los datos experimentales al modelo de Michaelis-Menten, se demuestra que en *Eichhornia crassipes* no hay un efecto tóxico de Cd, porque la pendiente es positiva.

En la Figura 30 se presenta la cinética de absorción *Myriophyllum aquaticum* mediante el modelo de Michaelis-Menten, de a) arsénico y b) cadmio, respectivamente.

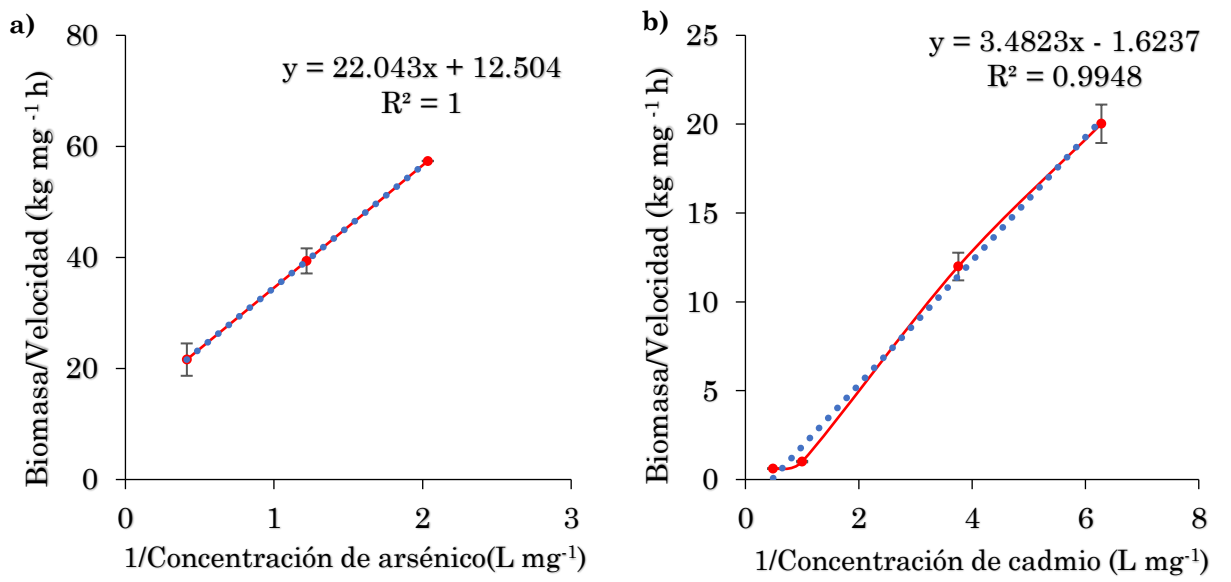


Figura 30. Cinética de fitoextracción en *Myriophyllum aquaticum* de a) arsénico y b) cadmio

Los datos experimentales de As y Cd se ajustaron al modelo de Michaelis-Menten, con R^2 de 1 y 0.99 respectivamente. También se mostró que no hay efecto tóxico de arsénico y cadmio en la especie *Myriophyllum aquaticum,* a pesar de que la ordenada en el gráfico de cadmio es negativa.

La cinética de absorción en *Wolffia columbiana* mediante el modelo de Michaelis-Menten, de arsénico y cadmio, se muestra en la Figura 31.

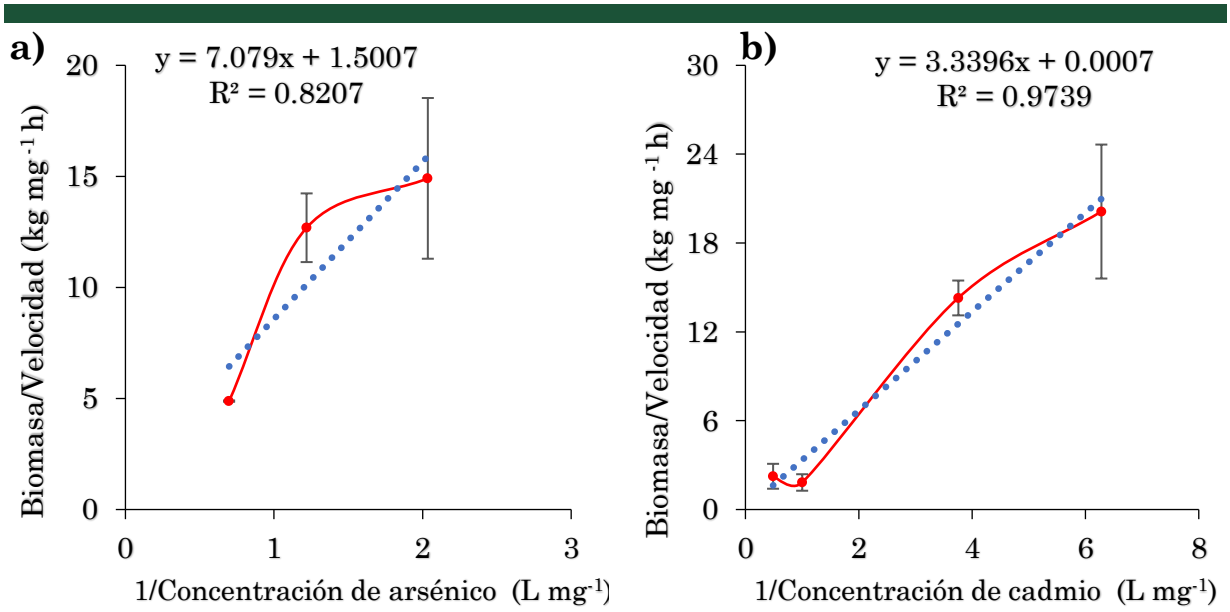


Figura 31. Cinética de fitoextracción en *Wolffia columbiana* de a) arsénico y b) cadmio

La cinética de arsénico no mostró un ajuste lineal al modelo de Michaelis-Menten, se observó una concavidad lo que indica que la derivada de la función de la recta es creciente en dicho intervalo, los valores de ajuste de R^2 fueron de 0.8207 en As, mientras que en Cd fue de 0.9739, sin embargo, con ambos contaminantes se observó que no hay un efecto tóxico hacia la especie *Wolffia columbiana*.

No se lograron ajustar los datos experimentales de Cu, al modelo de Michaelis-Menten propuesto para la cinética de fitoextracción., probablemente porque se encontraba en altas concentraciones en el agua residual a la que fueron expuestas las especies vegetales, y el modelo se consideró aplicado a bajas concentraciones de contaminantes. Yu *et al.* (2005), emplearon como concentración máxima 7.69 mg CN/L. Chua *et al.* (2019), estudiaron la cinética de fitoextracción de Cu, con concentración máxima de 120 µM.

Los parámetros obtenidos del ajuste de los datos experimentales de arsénico, cadmio y cobre se muestran en la Tabla 16, así como los parámetros k_m y V_{max} del modelo de Michaelis-Menten, los cuales describen la constante cinética media de saturación (mg L^{-1}), y la velocidad máxima de remoción (mg kg^{-1} h^{-1}).

Tabla 16. Parámetros de la cinética de fitoextracción

Lineal y=Bx+A	***Eichhornia crassipes***	***Myriophyllum aquaticum***	***Wolffia columbiana***
Arsénico			
R^2		1	0.8207
V_{max} (mg kg^{-1} h^{-1})		0.080	0.666
k_m (mg L^{-1})		1.76	4.72
Cadmio			
R^2	0.999	0.994	0.974
V_{max} (mg kg^{-1} h^{-1})	1.021	0.616	1428.5
k_m (mg L^{-1})	1.306	2.145	4770

Los resultados muestran que los valores obtenidos para k_m y V_{max} variaron con las especies de plantas. El valor más alto de la V_{max} de remoción de As se logró al utilizar *Wolffia columbiana* ya que remueve a 0.666 mg kg^{-1} h^{-1}, mientras que el valor de *Myriophyllum aquaticum* fue de 0.08 mg kg^{-1} h^{-1}, siendo 8 veces más lenta en remover arsénico.

Wolffia columbiana obtuvo la V_{max} más alta en remover Cd, con un valor de 1428.5 mg kg^{-1} h^{-1}. La V_{max} de remoción de Cd, mediante *Eichhornia crassipes*, tuvo un valor de 1.021 mg kg^{-1} h^{-1}, y la V_{max} más baja, fue con *Myriophyllum aquaticum* con un valor de 0.616 mg kg^{-1} h^{-1}.

Se determinaron mayores velocidades para la remoción de cadmio que arsénico, y así mismo se presentó el mejor ajuste lineal de los datos en la experimentación de cadmio. Comparando las especies vegetales el mejor ajuste fue con *Myriophyllum aquaticum* con valores de R^2 superiores al 0.99. Las más altas velocidades para remover As y Cd del agua fueron mediante W*olffia columbiana*.

Yu *et al.* (2005) obtuvieron los parámetros V_{max} y k_m, cuantificando la cinética de Michaelis-Menten, en plantas vasculares el tiempo de exposición fue de 28 horas, por ejemplo, la V_{max} en remover cianuro por *Populus deltoides marsh* y P*runus persica selb* fueron de 10.49 mg kg^{-1} h^{-1} y 16. 50 mg kg^{-1} h^{-1}.

Narang *et al*. (2011), determinaron cinética de fitoextracción de Hg en *Eichhornia crassipes, c*on V_{max} =7.184 mg L^1 h^{-1}, en 14 días. Rofkar y Dwyer (2011), informaron que mediante el modelo de Michaelis-Menten obtuvieron la V_{max} y k_m de As, en las especies *Spartina pectinata* 21.3 mg L^{-1}; 24.5 mg L^{-1} h^{-1}) y *Carex stricta* (74.4 mg L^{-1}; 46.5 mg L^{-1} h^{-1}) a las 4 horas. Chua *et al*. (2019), obtuvieron como V_{max} = 13.68 mg kg^{-1} d^{-1} y k_m =2.06 mg L^{-1} de Cu a los 7 días, en especies de bambú filipino.

En la literatura reportan V_{max} de remoción con valores superiores a los 7 mg kg^{-1} h^{-1} aproximadamente, sin embargo, los estudios indican un periodo corto de exposición de las plantas, considerando solamente el crecimiento. En este estudio los parámetros cinéticos obtenidos fueron a un tiempo de 60 días, considerando la etapa del crecimiento, desarrollo y estabilización de las plantas.

Un ejemplo de aplicación del modelo de Michaelis-Menten es el siguiente: si se remediara un cuerpo de agua de 1000 m^3, que tiene una concentración de 10 mg/L de Cd, con la especie *Wolffia columbiana*. Y se utilizara la biomasa promedio empleada en la experimentación que fue de 5.9 g, el cálculo de la velocidad de remoción como se muestra a continuación.

$$V = \frac{V_{max} C}{k_m + C} M$$

$$V = \frac{1428.5 mg kg^{-1} h^{-1} \quad 10 mg L^{-1}}{4470 mg L^{-1} + 10 mg L^{-1}} \; 0.0059 kg = \frac{0.018 mg Cd}{h}$$

Por lo tanto, el tiempo en remediar el sitio, es

$$V = \frac{C \quad Volumen}{V \quad No.ejemplares}$$

$$t = \frac{10 mg L^{-1} \quad 1{,}000{,}000 L}{0.018 mg h^{-1} \quad 12500} = 5 años$$

De acuerdo con la experimentación, un ejemplar ocupa un volumen de 0.008 m^3, por lo que se decide emplear 12,500 ejemplares. Este proceso toma un largo tiempo, pero es un proceso económicamente viable que podría aplicarse en determinados cuerpos de agua donde no se tiene acceso a los métodos tradicionales de tratamiento, más costosos.

Capítulo 6

Conclusiones y Recomendaciones

Conclusiones

Se generó biomasa en todos los experimentos donde se empleó *Eichhornia crassipes* (lirio), lo cual pude atribuirse al hecho de que la planta utilizó As, Cd y Cu como micronutrientes para su supervivencia. Es posible que la disminución en la producción de biomasa en las especies *Myriophyllum aquaticum* (sirena) y *Wolffia columbiana* (lentejuela) se debiera a efectos tóxicos.

La tasa de crecimiento máxima se observó en *Eichhornia crassipes* (lirio), seguida *Wolffia columbiana* (lentejuela) y por último la de *Myriophyllum aquaticum* (sirena).

---

*Mezcla de contaminantes, medio neutro

No se presentó algún síntoma que mostrará toxicidad aparente en las plantas.

Arsénico

- La remoción de As del agua fue del 65 %, 43 % y 69 %, para *Eichhornia crassipes, Myriophyllum aquaticum* y *Wolffia columbiana,* respectivamente a los 45 días.
- Los factores de bioconcentración fueron 0.72, 0.28 y 0.82 para *Eichhornia crassipes, Myriophyllum aquaticum* y *Wolffia columbiana*, respectivamente; las especies fueron acumuladoras de As.
  La mayor capacidad para transportar As hacia tejidos superiores fue con *Myriophyllum aquaticum* al calcularse un FT de 0.64, mientras que el FT de *Eichhornia crassipes* fue de 0.27.

Cadmio

- La mayor remoción de Cd se observó a los 30 días con eficiencias del 92 % para *Eichhornia crassipes*, 88 % mediante *Myriophyllum aquaticum,* y al utilizar *Wolffia columbiana* la mayor remoción de cadmio fue a los 15 días con 78 %.
- El cadmio acumulado en la biomasa de *Eichhornia crassipes, Myriophyllum aquaticum* y *Wolffia columbiana* fue de 1400, 2331 y 745 mg/kg, respectivamente, se consideró su biomasa como residuos peligrosos. Las tres especies fueron catalogadas como hiperacumuladoras de cadmio. La mejor capacidad de transportar el Cd hacia sus tejidos superiores fue de *Myriophyllum aquaticum* con un valor de FT de 0.43.

Cobre

- Al emplear *Eichhornia crassipes* y *Wolffia columbiana* en la fitoextracción de Cu se obtuvieron eficiencias del 92% y 75 %, respectivamente en 30 días, mientras que en la fitoextracción con *Myriophyllum aquaticum* se logró una eficiencia del 89 % en 15 días.
- Se observó en la biomasa de *Myriophyllum aquaticum (*13588 mg Cu/kg), esta cantidad fue de 1000 mg/kg para *Eichhornia crassipes* y *Wolffia columbiana*. Las especies fueron clasificadas como hiperacumuladoras de Cu, FBC de 4, 5, y 4 para *Eichhornia crassipes, Myriophyllum aquaticum* y *Wolffia columbiana*.

***Mezcla de contaminantes, medio ácido**

Los resultados de la concentración, FBC y FT de As, Cd y Cu en las plantas es muy semejante a los resultados en medio neutro, sin embargo, las especies mostraron síntomas de toxicidad a los 21 días.

***Contaminantes solos, medio neutro**

- Hubo una mínima absorción de As en las especies y resultaron ser solamente tolerantes de arsénico.
- Las eficiencias para la remoción de cadmio mediante *Eichhornia crassipes, Myriophyllum aquaticum* y *Wolffia columbiana,* fueron del 99 %, 73 % y 58 %, respectivamente, en 45 días. La mayor cantidad de Cd se cuantificó en la biomasa de *Eichhornia crassipes* (1500 mg Cd/kg), mientras que la biomasa de las otras dos especies concentró aproximadamente 500 mg Cd/kg. Se observó una baja capacidad de transportar Cd hacia sus tejidos superiores, en *Eichhornia crassipes* y *Myriophyllum aquaticum*, porque la parte aérea solamente concentró el 10 % de Cd. Las tres especies resultaron hiperacumuladoras de cadmio.
- Se observaron porcentajes de eliminación de Cu del 63 % y 43 % en tan sólo 15 días, con *Myriophyllum aquaticum* y *Wolffia columbiana,* respectivamente, mientras que al usar *Eichhornia crassipes* se tuvo una eficiencia del 80 % a los 21 días. Las especies fueron acumuladoras de cobre, presentaron concentraciones superiores a los 4000 mg Cu/kg, demostrando su alta capacidad para absorber y acumular cobre.

La mayor V_{max} de remoción de arsénico se observó en *Wolffia columbiana*, siendo 5 veces mayor que la de *Myriophyllum aquaticum* y una constante cinética de absorción casi del doble. Los mayores valores en la V_{max} y en k_m de Cd fueron en *Wolffia columbiana*. Se cuantificaron valores más altos de V_{max} y k_m, en Cd que, en As, indicando la mayor rapidez para remover cadmio en cuerpos de agua.

Recomendaciones

Se recomienda evaluar el tiempo y la velocidad de remoción de cadmio o arsénico en un cuerpo de agua, para comparar los valores con los parámetros obtenidos del modelo de Michaelis-Menten en el laboratorio.

La biomasa generada en cada una de las experimentaciones (aproximadamente 500 g), fue considerada un residuo peligroso, por su alta concentración de arsenico, cadmio y cobre, por lo que se recomienda como proceso de tratamiento, la incineración o el encapsulamiento.

Sin embargo, es recomendable realizar un estudio del analisis de ciclo de vida entre la incineración y el encapsulamiento de estos residuos, para evaluar cuantitaviamente los impactos asociados a estos dos procesos y así decidir que alternativa usar en la disposición de estos residuos.

Capítulo 7

Referencias

Ali, H., Khan, E., y Sajad, M. A. (2013). Phytoremediation of heavy metals—Concepts and applications. *Chemosphere*, 91(7), 869-881. doi:10.1016/j.chemosphere.2013.01.075

Ali, A., Di, G., Mahar, A., Wang P., Shen, F., Li, R., Zhang Z. (2017). Mycoremediation of Potentially Toxic Trace Elements —— a Biological Tool for Soil Cleanup : A review. *Pedosphere*, 27(2), 205-222. doi:10.1016/S1002-0160(17)60311-4

Afonso, A., Gutiérrez, A. J., Lozano, G., González-Weller, D., Rubio, C., Caballero, J. M., Hardisson, A., y Revert, C. (2017). Determination of toxic metals, trace and essentials, and macronutrients in *Sarpa salpa* and *Chelon labrosus*: risk assessment for the consumers. *Environmental Science and Pollution Research International*, 24(11), 10557-10569. doi:10.1007/s11356-017-8741-y

Arán, D. S., Harguinteguy, C. A., Fernandez-Cirelli, A., y Pignata, M. L. (2017). Phytoextraction of Pb, Cr, Ni, and Zn using the aquatic plant *Limnobium laevigatum* and its potential use in the treatment of wastewater. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(22), 18295-18308. doi:10.1007/s11356-017-9464-9

Arias, S. A., Betancur, F. M., Gómez, G., Salazar, J. P., y Hernández, M. L. (2010). Fitorremediación con humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales porcinas. *Informador Técnico*, 74, 12-22

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). (2007). Toxicological profile for arsenic. Recuperado el 17 de febrero de 2019 de: https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp2.pdf

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). (2012). Toxicological profile for cadmium. Recuperado el 17 de febrero de 2019 de: https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp5.pdf

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). (2004). Toxicological profile for copper. Recuperado el 17 de febrero de 2019 de: https://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp132.pdf

Baker, A. J. M., y Brooks, R. R. (1989). Terrestrial Higher Plants which Hyperaccumulate Metallic Elements - a Review of their Distribution. *Ecology and Phytochemistry. Biorecovery*, 1: 81-126.

Benáková, M., Ahmadi, H., Dučaiová, Z., Tylová, E., Clemens, S., y Tůma, J. (2017). Effects of Cd and Zn on physiological and anatomical properties of hydroponically grown *Brassica napus* plants. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(25), 20705-20716. doi:10.1007/s11356-017-9697-7

Berman, E. (1980). Toxic Metals and their Analysis. *Heyden and Sons*, London

Bhargava, A., Carmona, F. F., Bhargava, M., y Srivastava, S. (2012). Approaches for enhanced phytoextraction of heavy metals. *Journal of Environmental Management*, 105, 103-120. doi:10.1016/j.jenvman.2012.04.002

Boonyapookana, B., Upatham, E. S., Kruatrachue, M., Pokethitiyook, P., y Singhakaew, S. (2002). Phytoaccumulation and phytotoxicity of cadmium and chromium in duckweed *Wolffia globosa*. *International Journal of Phytoremediation*, 4(2), 87-100. doi:10.1080/15226510208500075

Bonanno, G., y Lo Giudice, R. (2010). Heavy metal bioaccumulation by the organs of *Phragmites australis* (common reed) and their potential use as contamination indicators. *Ecological Indicators*, 10(3), 639-645. doi:10.1016/j.ecolind.2009.11.002

Bog, M., Schneider, P., Hellwig, F., Sachse, S., Kochieva, E. Z., Martyrosian, E., Landolt, E., y Appenroth, K. J. (2013). Genetic characterization and barcoding of taxa in the genus *Wolffia Horkel* ex *Schleid*. (*Lemnaceae*) as revealed by two plastidic markers and amplified fragment length polymorphism (AFLP). *Planta*, 237(1), 1-13. doi:10.1007/s00425-012-1777-9

Brix, H., Dyhr-Jensen, K., y Lorenzen, B. (2002). Root-zone acidity and nitrogen source affects *Typha latifolia* L. growth and uptake kinetics of ammonium and nitrate. *Journal of Experimental Botany*, 53(379), 2441-2450. doi:10.1093/jxb/erf106

Center, T. D., y Spencer, N. R. (1981) The phenology and growth of water hyacinth (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) in a eutrophic Northcentral Florida lake. *Aquatic Botany,* 10, 1-32, doi:10.1016/0304-3770(81)90002-4

Center, T.D., Hill, M.P., Cordo, H., y Julien, M.H. (2002). Water hyacinth. In: Biological Control of Invasive Plants in the Eastern United States. *Van Driesche RG, Lyon S, Blossey B, Hoddle MS y Reardon R*, USDA Forest Service

Chua, J., Banua J.M., Arcilla, I., Orbecido, A., de Castro, M.E., Ledesma, N., Deocaris, C., Madrazo, C., y Belo L. (2019). Phytoremediation potential and

copper uptake kinetics of Philippine bamboo species in copper contaminated substrate. *Heliyon*, 5(9), 1-9 doi:10.1016/j.heliyon.2019.e02440

Copaja, S. V., Nuñez, V. R., Muñoz, G. S., González, G. L., Vila, I., y Véliz D. (2016). Heavy metal concentrations in water and sediments from affluents and effluents of Mediterranean Chilean reservoirs. *Journal of the Chilean Chemical Society,* 61(1), 2797-2804. doi:10.4067/S0717-97072016000100011

Colzi, I., Lastrucci, L., Rangoni, M., Coppi, A., y Gonnelli, C. (2018). Using *Myriophyllum aquaticum* (*Vell.*) Verdc. to remove heavy metals from contaminated water: Better dead or alive?. *Journal of Environmental Managemen*t, 213, 320-328. doi:10.1016/j.jenvman.2018.02.074

Crawford, D. J., y Landolt, E. (1995). Allozyme divergence among species of *Wolffia* (*Lemnaceae*). *Plant Systematics and Evolution*, 197(1-4), 59-69.

De Souza, T. D., Borges, A. C., Teixeira de Matos, A., Veloso, R. W., y Braga, A. F. (2018). Optimization of arsenic phytoremediation using *Eichhornia crassipes*. *International Journal of Phytoremediation*, 20(11), 1129-1135. doi:10.1080/15226514.2018.1460308

DOF (Diario Oficial de la Federación). (1996). NOM-001-SEMARTNAT-1996, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. Secretaría de medio ambiente y recursos naturales. Recuperado: el 17 de febrero de 2019 de: http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5510140yfecha=05/01/2018yprint=true

DOF (Diario Oficial de la Federación). (2005). NOM-052-SEMARNAT-2005, que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos . Secretaría de medio ambiente y recursos naturales. Recuperado: el 17 de febrero de 2019 de: http://www.dof.gob.mx/normasOficiales/1055/SEMARNA/SEMARNA.htm

DOF (Diario Oficial de la Federación). (2016). Norma mexicana NMX-AA-051-SCFI 2016. Análisis de agua. Medición de metales por absorción atómica en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas- método de prueba. Secretaría de medio ambiente y recursos naturales. Recuperado: el 17 de febrero de 2019 de http://www.economia-nmx.gob.mx/normas/nmx/2010/nmx-aa-051-scfi-2016.pdf

Dowd, J. E., y Riggs, D. S. (1965). A comparison of Estimates of Michaelis-Menten kinetic Constants from Various Linear Transformations. *The Journal of Biological Chemistry*, 240(2), 863-869.

Drążkiewicz, M., y Baszyński, T. (2005). Growth parameters and photosynthetic pigments in leaf segments of *Zea mays* exposed to cadmium, as related to protection mechanisms. *Journal of Plant Physiology*, 162(9), 1013-1021. doi:10.1016/j.jplph.2004.10.010

Eid, E. M., y Shaltout, K. H. (2014). Monthly variations of trace elements accumulation and distribution in above- and below-ground biomass of *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steudel in Lake Burullus (Egypt): A biomonitoring application. *Ecological Engineering*, 73, 17-25. doi:10.1016/j.ecoleng.2014.09.006

Eid, E. M., y Shaltout, K. H. (2017). Population dynamics of *Eichhornia crassipes (C. mart.)* Solms in the Nile Delta, Egypt. *Plant Species Biology*, 32(4), 279-291. doi:10.1111/1442-1984.12154

Eid, E. M., Shaltout, K. H., Moghanm, F. S., Youssef, M. S. G., El-Mohsnawy, E., y Haroun, S. A. (2019). Bioaccumulation and translocation of nine heavy metals by *Eichhornia crassipes* in Nile Delta, Egypt: Perspectives for phytoremediation. *International Journal of Phytoremediation*, 21(8), 821-830. doi:10.1080/15226514.2019.1566885

Faulwetter, J. L., Burr, M. D., Cunningham, A. B., Stewart, F. M., Camper, A. K., y Stein, O. R. (2011). Floating treatment wetlands for domestic wastewater treatment. *Water Science and Technology*, 64(10), 2089-2095. doi:10.2166/wst.2011.576

Förstner, U., y Wittmann, G. T. (1981) Metal pollution in the aquatic environment. *Springer-Verlag*, Berlin

Garg, J. K. (2015). Wetland assessment, monitoring and management in India using geospatial techniques. *Journal of Environmental Management*, 148, 112-123. doi:10.1016/j.jenvman.2013.12.018

GIC (Grupo de Investigación en Biología de la Conservación de la Universidad de Extremadura). (2006). Informe sobre Distribución y Biología Reproductora del jacinto de Agua en el Guadiana. *Confederación Hidrográfica del Guadiana, Ministerio de Medio Ambiente*, España.

Guterres, J., Rossato, L., Doley, D., y Pudmenzky, A. (2019). A new conceptual framework for plant responses to soil metals based on metal transporter kinetic parameters. *Journal of Hazardous Materials*, 364, 449-467. doi:10.1016/j.jhazmat.2018.09.026

Harguinteguy, C.A., Schreiber, R., y Pignata M.L. (2013) *Myriophyllum aquaticum* as a biomonitor of water heavy metal input related to agricultural activities in the Xanaes River (Córdoba, Argentina). *Ecological Indicators*, 27, 8-16. doi:10.1016/j.ecolind.2012.11.018

Harguinteguy, C. A., Pignata, M. L., y Fernández-Cirelli, A. (2015). Nickel, lead and zinc accumulation and performance in relation to their use in phytoremediation of macrophytes *Mriophyllum aquaticum* and *Egeria densa*. *Ecological Engineering*, 82, 512-516. doi:10.1016/j.ecoleng.2015.05.039

He, Y., Chang, Y., Cui, H., y Huang, M. (2017). Artificial floating islands for water quality improvement. *Environmental Reviews*, 25(3), 350-357. doi:10.1139/er-2016-0038

Henken, K.R., y Hutchison, A. (2009). Arsenic chemistry. *Arsenic Environmental Chemistry, Health Threats and Waste Treatment*. John Wiley y Sons Ltd., Chichester.

Hillman, W.S., y Culley, D.D. (1978). The uses of duckweed. *American Scientist*, 66, 442–451

Hossain, M. A., Piyatida, P., da Silva, Jaime A. Teixeira, y Fujita, M. (2012). Molecular Mechanism of Heavy Metal Toxicity and Tolerance in Plants: Central Role of Glutathione in Detoxification of Reactive Oxygen Species and Methylglyoxal and in Heavy Metal Chelation. *Journal of Botany*, 2012, 1-37. doi:10.1155/2012/872875

Huang, J., Paul, S., Mayer, S., Moradpour, E., Hasselbach, R., Gieré, R., y Alewell, C. (2017). Metal biogeochemistry in constructed wetlands based on fluviatile sand and zeolite- and clinopyroxene-dominated lava sand. *Scientific Reports*, 7(1), 1-11. doi:10.1038/s41598-017-03055-7

Hussner, A., Meyer, C., y Busch, J. (2009). The influence of water level and nutrient availability on growth and root system development of *Myriophyllum aquaticum*. *Weed Research*, 49(1), 73-80. doi:10.1111/j.1365-3180.2008.00667.x

Islam M. S, Saito T., y Kurasaki M. (2015). Phytofiltration of arsenic and cadmium by using an aquatic plant, *Micranthemum umbrosum*: Phytotoxicity, uptake kinetics, and mechanism. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 112, 193-200. doi:10.1016/j.ecoenv.2014.11.006

Jabeen, R., Ahmad, A., y Iqbal, M. (2009). Phytoremediation of Heavy Metals: Physiological and Molecular Mechanisms. *Botanical Review*, 75(4), 339-364. doi:10.1007/s12229-009-9036-x

Jain, C. K., y Ali, I. (2000). Arsenic: occurrence, toxicity and speciation techniques. *Water Research*, 34(17), 4304-4312. doi:10.1016/S0043-1354(00)00182-2

Joseph, P. (2009). Mechanisms of cadmium carcinogenesis. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 238(3), 272-279. doi:10.1016/j.taap.2009.01.011

Jutsz, A. M., y Gnida, A. (2015). Mechanisms of stress avoidance and tolerance by plants used in phytoremediation of heavy metals. *Archives of Environmental Protection*, 41(4), 104-114. doi:10.1515/aep-2015-0045

Kamal, M., Ghaly, A. E., Mahmoud, N., y Côté, R. (2004). Phytoaccumulation of heavy metals by aquatic plants. *Environment International*, 29(8), 1029-1039. doi:10.1016/S0160-4120(03)00091-6

Kamusoko, R., y Jingura, R. M. (2017). Utility of Jatropha for Phytoremediation of Heavy Metals and Emerging Contaminants of Water Resources: A Review. *CLEAN-Soil, Air, Water*, 45(11), 1-8. doi:10.1002/clen.201700444

Kay, S. H, Haller, W. T., Garrard, L. A. (1984). Effects of heavy metal on water hyacinths (*Eichhornia crassipes* (*Mart) Solms*). *Aquatic Toxicology, 5(*2), 117-128. doi.org/10.1016/0166-445X(84)90003-1

Kobielska, P. A., Howarth, A. J., Farha, O. K., y Nayak, S. (2018). Metal–organic frameworks for heavy metal removal from water. *Coordination Chemistry Reviews*, 358(C), 92-107. doi:10.1016/j.ccr.2017.12.010

Kruse, C., Boehm, R., Voeste, D., Barth, S., y Schnabl, H. (2002). Transient transformation of *Wolffia columbiana* by particle bombardment. *Aquatic Botany*, 72(2), 175-181. doi:10.1016/S0304-3770(01)00219-4

Kumar Yadav, K., Gupta, N., Kumar, A., Reece, L. M., Singh, N., Rezania, S., y Ahmad Khan, S. (2018). Mechanistic understanding and holistic approach of

phytoremediation: A review on application and future prospects. *Ecological Engineering*, 120, 274-298. doi:10.1016/j.ecoleng.2018.05.039

Leão, G. A., Oliveira, J. A., Farnese, F. S., Gusman, G. S., y Felipe, R. T. A. (2014). Sulfur metabolism: Different tolerances of two aquatic macrophytes exposed to arsenic. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 105, 36-42. doi:10.1016/j.ecoenv.2014.03.011

Lizama, A. K., Fletcher, T. D., y Sun, G. (2011). Removal processes for arsenic in constructed wetlands. *Chemosphere*, 84(8), 1032-1043. doi:10.1016/j.chemosphere.2011.04.022

Lombi, E., Tearall, K. L., Howarth, J. R., Zhao, F., Hawkesford, M. J., y McGrath, S. P. (2002). Influence of Iron Status on Cadmium and Zinc Uptake by Different Ecotypes of the Hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*[1]. *Plant Physiology*, 128(4), 1359-1367. doi:10.1104/pp.010731

Lu, G., Wang, B., Zhang, C., Li, S., Wen, J., Lu, G., Zhu, C., Zhou, y Y. (2018). Heavy metals contamination and accumulation in submerged macrophytes in an urban river in China. *International Journal of Phytoremediation*, 20(8), 839-846. doi:10.1080/15226514.2018.1438354

Mant, C., Costa, S., Williams, J., y Tambourgi, E. (2006). Phytoremediation of chromium by model constructed wetland. *Bioresource Technology*, 97(15), 1767-1772. doi:10.1016/j.biortech.2005.09.010

Meharg, A. A., y Hartley-Whitaker, J. (2002). Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and nonresistant plant species. *New Phytologist*, 154(1), 29-43. doi:10.1046/j.1469-8137.2002.00363.x

Melignani, E., de Cabo, L. I., y Faggi, A. M. (2015). Copper uptake by *Eichhornia crassipes* exposed at high level concentrations. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(11), 8307-8315. doi:10.1007/s11356-014-3972-7

Methy, M., Alpert, P., y Roy, J. (1990) Effects of light quality and quantity on growth of the clonal plant *Eichhornia crassipes*. *Oecologia* 84(2), 265-271. doi:10.1007/BF00318283

Mishra, V. K., y Tripathi, B. D. (2009). Accumulation of chromium and zinc from aqueous solutions using water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *Journal of Hazardous Materials*, 164(2), 1059-1063. doi:10.1016/j.jhazmat.2008.09.020

Mokhtar, H., Morad, N., y Fizri, F. (2011). Phytoaccumulation of Copper from Aqueous Solutions Using *Eichhornia Crassipes* and *Centella Asiatica. International Journal of Environmental Science and Development,* 2(3), 205-210. doi: 10.7763/IJESD.2011.V2.125

Moreira, I., Monteira, A., y Ferreira T. (1999). Biology and control of Parrotfeather (*Myriophyllum aquaticum*) in Portugal. *Ecology, Environment and Conservation*, 5(3), 171-179.

Narang, U., Bhardwaj, R., Garg, S.K. y Thukral, A.K. (2011). Phytoremediation of mercury using *Eichhornia crassipes* (*Mart.) Solms*. *International Journal of Environment and Waste Management*, 8, 92-105. doi: 10.1504/IJEWM.2011.040967

Newete, S. W., Erasmus, B. F. N., Weiersbye, I. M., y Byrne, M. J. (2016). Sequestration of precious and pollutant metals in biomass of cultured water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *Environmental Science and Pollution Research*, 23(20), 20805-20818. doi:10.1007/s11356-016-7292-y

Ngayila, N., Basly J., Lejeune, A., Botineau, M., y Baudu, M. (2007). *Myriophyllum alterniflorum* DC., biomonitor of metal pollution and water quality. Sorption/accumulation capacities and photosynthetic pigments composition changes after copper and cadmium exposure. *Science of the Total Environment*, 373(2), 564-571. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.11.038

Oyuela, Leguizamo, M. A., Fernández, G. W. D., y Sarmiento, M. C. G. (2017). Native herbaceous plant species with potential use in phytoremediation of heavy metals, spotlight on wetlands — A review. *Chemosphere*, 168, 1230-1247. doi:10.1016/j.chemosphere.2016.10.075

Pallardy, S.G. (2010). Physiology of woody plants. *Academic Press.*

Peer, W. A., Baxter, I. R, Richards, E. L., Freeman J. L., y Murphy A. S. (2005). Phytoremediation and hyperaccumulator plants. *Molecular Biology of Metal Homeostasis and Detoxification*, 14, 299-340. doi:10.1007/4735_100

Pell, A., Márquez, A., López-Sánchez, J. F., Rubio, R., Barbero, M., Stegen, S., Queirolo, F., y Díaz-Palma, P. (2013). Occurrence of arsenic species in algae and freshwater plants of an extreme arid region in northern Chile, the Loa River Basin. *Chemosphere*, 90(2), 556-564. doi:10.1016/j.chemosphere.2012.08.028

Przemeck, E., y Haase, N. U. (1991). On the bonding of manganese, copper and cadmium to peptides of the xylem sap of plant roots. *Water, Air, and Soil Pollution,* 57-58(1), 569-577. doi:10.1007/BF00282920

Rahman, K. Z., Wiessner, A., Kuschk, P., Van Afferden, M., Mattusch, J., y Müller, R. A. (2011). Fate and distribution of arsenic in laboratory-scale subsurface horizontal-flow constructed wetlands treating an artificial wastewater. *Ecological Engineering*, 37(8), 1214-1224. doi:10.1016/j.ecoleng.2011.02.016

Ray, A. M., y Inouye, R. S. (2007). Development of vegetation in a constructed wetland receiving irrigation return flows. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 121(4), 401-406. doi:10.1016/j.agee.2006.11.018

Rayu, S., Karpouzas, D. G., y Singh, B. K. (2012). Emerging technologies in bioremediation: Constraints and opportunities. *Biodegradation*, 23(6), 917-926. doi:10.1007/s10532-012-9576-3

Reeves, R. D., y Baker A. J. M. (1999). Metal-accumulating plants. *Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean up the Environment*, John Wiley y Sons Inc., New York.

Rehman, K., Fatima, F., Waheed, I., y Akash, M. S. H. (2018). Prevalence of exposure of heavy metals and their impact on health consequences. *Journal of Cellular Biochemistry*, 119(1), 157-184. doi:10.1002/jcb.26234

Rezania, S., Taib, S. M., Md Din, M. F., Dahalan, F. A., y Kamyab, H. (2016). Comprehensive review on phytotechnology: Heavy metals removal by diverse aquatic plants species from wastewater. *Journal of Hazardous Materials*, 318, 587-599. doi:10.1016/j.jhazmat.2016.07.053

Rofkar, J. R., y Dwyer, D. F. (2011). Effects of light regime, temperature, and plant age on uptake of arsenic by *Spartina pectinata* and *Carex stricta*. *International Jorunal Phytoremediation*, 13(6), 528-537. doi: 10.1080/15226514.2010.495151

Romero-Hernández, J. A., Amaya-Chávez, A., Balderas-Hernández, P., Roa-Morales, G., González-Rivas, N., y Balderas-Plata, M. Á. (2017). Tolerance and hyperaccumulation of a mixture of heavy metals (Cu, Pb, Hg, and Zn) by four aquatic macrophytes. *International Journal of Phytoremediation*, 19(3), 239-245. doi:10.1080/15226514.2016.1207610

Sadasivan P. H., y Tharayil, M. (2017). Treatment of heavy metals from water by electro-phytoremediation technique. *Journal of Ecological Engineering*, 18(5), 18-26. doi:10.12911/22998993/76208

Salt, D. E., Smith, R. D., y Raskin, I. (1998). Phytoremediation. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49(1), 643-668. doi:10.1146/annurev.arplant.49.1.643

Salt, D. E., Blaylock, M., Kumar, N., Dushenkov. V., Ensley, B., Chet I., y Raski I. (1995). Phytoremediation: A Novel Strategy for the Removal of Toxic Metals from the Environment Using Plants. *Bio/technology*, 13, 468-474, doi:10.1038/nbt0595-468 ·

Saraswat, S., y Rai, J. P. N. (2010). Heavy metal adsorption from aqueous solution using *Eichhornia crassipes* dead biomass. *International Journal of Mineral Processing*, 94(3-4), 203-206. doi:10.1016/j.minpro.2010.02.006

Sharma, S., Singh, B., y Manchanda, V. K. (2015). Phytoremediation: Role of terrestrial plants and aquatic macrophytes in the remediation of radionuclides and heavy metal contaminated soil and water. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(2), 946-962. doi:10.1007/s11356-014-3635-8

Sinha, R. K., Herat, S., y Tandon, P. (2007). Phytoremediation: role of plants in contaminated site management. *Environmental Bioremediation Technologies*. Springer, Berlin.

Sricoth, T., Meeinkuirt, W., Pichtel, J., Taeprayoon, P., y Saengwilai, P. (2018). Synergistic phytoremediation of wastewater by two aquatic plants (*Typha angustifolia* and *Eichhornia crassipes*) and potential as biomass fuel. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(6), 5344-5358. doi:10.1007/s11356-017-0813-5

Srivastava, S., Sounderajan, S., Udas, A., y Suprasanna, P. (2014). Effect of combinations of aquatic plants (*Hydrilla, Ceratophyllum, Eichhornia, Lemna* and *Wolffia*) on arsenic removal in field conditions. *Ecological Engineering*, 73, 297-301. doi:10.1016/j.ecoleng.2014.09.029

Sukumaran, D. (2013). Phytoremediation of Heavy Metals from Industrial Effluent Using Constructed Wetland Technology. *Applied Ecology and Environmental Sciences*, 1(5), 92-97. doi: 10.12691/aees-1-5-4

Suresh, B., y Ravishankar, G. A. (2004). Phytoremediation-A novel and promising approach for environmental clean-up. *Critical Reviews in Biotechnology*, 24(2-3), 97-124. doi:10.1080/07388550490493627

Susarla, S., Medina, V. F., y McCutcheon, S. C. (2002). Phytoremediation: An ecological solution to organic chemical contamination. *Ecological Engineering*, 18(5), 647-658. doi:10.1016/S0925-8574(02)00026-5

Sytsma, M. D., y Anderson, L. W. J. (1993). Transpiration by an emergent macrophyte: source of water and implications for nutrient supply. *Hydrobiologia* 271(2), 97-108. doi:10.1007/BF00007546

U.S. Environmental Protection Agency EPA 3015A. (2007). Microwave assisted acid digestion of aqueous samples and extracts. Recuperado: el 17 de febrero de 2019 de: https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3015a.pdf

U.S. Environmental Protection Agency EPA 3051A. (2007). Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils and oils. Recuperado: el 17 de febrero de 2019 de: https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3051a.pdf

Valipour, A., y Ahn, Y. (2016). Constructed wetlands as sustainable ecotechnologies in decentralization practices: A review. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(1), 180-197. doi:10.1007/s11356-015-5713-y

Valles-Aragón, M. C., y Alarcón-Herrera, M. T. (2014). Retención de arsénico en humedales construidos con *Eleocharis macrostachya* y *Schoenoplectus americanus*. *Revista Internacional De Contaminación Ambiental*, 30(2), 143-148

Vijayaraghavan, K., y Balasubramanian, R. (2015). Is biosorption suitable for decontamination of metal-bearing wastewaters? A critical review on the state-of-the-art of biosorption processes and future directions. *Journal of Environmental Management*, 160, 283-296. doi:10.1016/j.jenvman.2015.06.030

Wang, J., Zhao, F., Meharg, A. A., Raab, A., Feldmann, J., y McGrath, S. P. (2002). Mechanisms of arsenic hyperaccumulation in *Pteris vittata*. uptake kinetics, interactions with phosphate, and arsenic speciation. *Plant Physiology*, 130(3), 1552-1561. doi:10.1104/pp.008185

Weis, P., y Weis, J. S. (2004). Metal uptake, transport and release by wetland plants: Implications for phytoremediation and restoration. *Envieronment International,* 30(5), 685-700. doi:10.1016/j.envint.2003.11.002

Wersal, R. M., Cheshier, J. C., Madsen, J. D., y Gerard, P. D. (2011). Phenology, starch allocation, and environmental effects on *Myriophyllum aquaticum*. *Aquatic Botany*, 95(3), 194-199. doi:10.1016/j.aquabot.2011.05.012

Wersal, R. M., y Madsen, J. D. (2011). Comparative effects of water level variations on growth characteristics of *Myriophyllum aquaticum*. *Weed Research*, 51(4), 386-393. doi:10.1111/j.1365-3180.2011.00854.x

Wu, J., Wang, L., Ma, F., Zhao, L., Huang, X., y Luo, Z. (2019). The Speciation and Distribution Characteristics of Cu in *Phragmites australis* (Cav.) Trin ex. Steudel. *Plant Biology*, 21(5), 873-881. doi:10.1111/plb.12989

Xiaomei, L., Maleeya, K., Prayad, P., y Kunaporn H. (2004). Removal of Cadmium and Zinc by Water Hyacinth, *Eichhornia crassipes*. *Science Asia*, 30, 93-103. doi: 10.2306/scienceasia1513-1874.2004.30.093

Xie, W., Huang, Q., Li, G., Rensing, C., y Zhu, Y. (2013). Cadmium accumulation in the rootless macrophyte *Wolffia globosa* and its potential for phytoremediation. *International Journal of Phytoremediation*, 15(4), 385-397. doi:10.1080/15226514.2012.702809

Xu, D., Wu, Y., Li, Y., Howard, A., Jiang, X., Guan, Y., y Gao, Y. (2014). Influence of UV radiation on chlorophyll, and antioxidant enzymes of wetland plants in different types of constructed wetland. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(17), 10108-10119. doi:10.1007/s11356-014-2909-5

Xu, Z., Wu, Y., Jiang, Y., Zhang, X., Li, J., y Ban, Y. (2018). Arbuscular mycorrhizal fungi in two vertical-flow wetlands constructed for heavy metal-contaminated wastewater bioremediation. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(13), 12830-12840. doi:10.1007/s11356-018-1527-z

Yan, S., Song, W., y Guo, J. (2017). Advances in management and utilization of invasive water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) in aquatic ecosystems - a review. *Critical Reviews in Biotechnology*, 37(2), 218-228. doi:10.3109/07388551.2015.1132406

Yang, X., Feng, Y., He, Z., y Stoffella, P. J. (2005). Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and phytoremediation. *Journal of Trace*

Elements in Medicine and Biology, 18(4), 339-353. doi:10.1016/j.jtemb.2005.02.007

Yang, W., Li, H., Zhang, T., Sen, L., y Ni, W. (2014). Classification and identification of metal-accumulating plant species by cluster analysis. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(18), 10626-10637. doi:10.1007/s11356-014-3102-6

Yang, J., Yang, J., Zheng, G., Wan, X., Song, B., Cai, W., y Guo, J. (2017). Phytoaccumulation of heavy metals (Pb, Zn, and Cd) by 10 wetland plant species under different hydrological regimes. *Ecological Engineering*, 107, 56-64. doi:10.1016/j.ecoleng.2017.06.052

Yoon, J. M., Oh, B., Just, C. L., y Schnoor, J. L. (2002). Uptake and leaching of octahydro-1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazocine by hybrid poplar trees. *Environmental Science y Technology*, 36(21), 4649-4655. doi:10.1021/es020673c

Yu, X., Zhou, P., Zhou, X., y Liu, Y. (2005). Cyanide removal by Chinese vegetation. quantification of the Michaelis-Menten kinetics. *Environmental Science and Pollution Research - International*, 12(4), 221-226. doi:10.1065/espr2005.05.261

Yu, X., y Gu, J. (2007). Differences in Michaelis–Menten kinetics for different cultivars of maize during cyanide removal. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 67(2), 254-259. doi:10.1016/j.ecoenv.2006.06.009

Zhang, X., Zhao, F., Huang, Q., Williams, P. N., Sun, G., y Zhu, Y. (2009). Arsenic uptake and speciation in the rootless duckweed *Wolffia globosa*. *The New Phytologist*, 182(2), 421-428. doi:10.1111/j.1469-8137.2008.02758.x

Zheng, B., Lu, S., Wu, J., Guo, X., Wu, F., Li, X., Xu, L. (2018). Heavy metal distribution in Tiaoxi River's sediment. *Environmental Science and Pollution Research International*, 25(3), 2603-2613. doi:10.1007/s11356-017-0332-4

Apéndice

Análisis Estadístico

El método estadístico que se aplicó durante esta investigación, se aplicaron diferentes pruebas de hipótesis para sustentar los resultados de la experimentación con conclusiones objetivas que tienen un grado de confiabilidad del 95 %. En la Tabla 17 se muestran las pruebas estadísticas para cada uno de los tratamientos llevados a cabo.

Tabla 17. Experimentaciones analizadas estadísticamente

Situación	Análisis estadístico
Influencia de la cantidad de biomasa en la remoción de arsénico, cadmio y cobre.	Análisis de varianza de un factor para los efectos de dos series de tratamientos, con formación de bloques aleatorizados.
Comparación del pH (medios neutro y ácido).	Análisis de varianza de un factor con formación de bloques no aleatorizados y la prueba de Cochran.
Comparación de los contaminantes (en mezcla y solos).	Análisis de varianza de un factor con formación de bloques no aleatorizados y la prueba de Cochran
Capacidad de acumulación de las especies.	Comparación de la media poblacional con la de un control, prueba de Dunnett, análisis de varianza de un factor.

Influencia de la cantidad de biomasa

La cantidad de biomasa de las especies es una variable importante en la remoción de contaminantes, que no puede ser controlada, pero debe ser medida, para determinar la influencia en la remoción de contaminantes del agua, así como la acumulación de éstos en su tejido. Para determinar si un parámetro es perturbador y tiene incidencia en el comportamiento global de la experimentación, se debe realizar un análisis de varianza. Se realizó este análisis a la experimentación en la que los contaminantes no se encontraban mezclados, para observar su comportamiento y afinidad hacía la planta, los experimentos fueron destructivos, determinando la cantidad de biomasa en cada uno de los muestreos.

La cantidad de biomasa es una variable no controlable, ya que al inicio se colocaron aproximadamente 10 g de biomasa y, sin embargo, a lo largo del tiempo fue cambiando. Las especies *Eichhornia crassipes* y *Wolffia columbiana* presentaron el mismo comportamiento en la cantidad de biomasa, ya que generaron 13, 15 y 21 g en los experimentos con arsénico, cadmio y cobre respectivamente, sin embargo, en *Myriophyllum aquaticum* se observó una disminución en la producción de biomasa

El análisis de varianza del conjunto de datos en la experimentación con arsénico se muestra en la Figura 32, el cual se realizó con una significancia del 5 %.

Arsénico	Bloque	Tratamiento					
Biomasa		1	2	3	Total	Promedio	Tot^2
menor a 5	1	1.1	1.6	0.9	3.6	1.2	13.2
mayor a 10	2	0.2	0.2	0.0	0.4	0.1	0.1
	Total=	1.295	1.782	0.940	4.0	1.3	13.4
	Promedios=	0.6	0.9	0.5	2.0		
	Tot^2	1.68	3.17	0.88	5.73		
	y^2	1.26	2.61	0.86	4.73		

a=	3	a-1=	2
b=	2	b-1=	1
N=	6	(a-1)(b-1)=	2
		N-1=	5

Fuente Variación	Suma cuadrados	Grados de libertad	Promedio Cuadrados
SStra=	2	1	1.77337038
SSblo=	0	2	0.089345554
SSerror=	0	2	0.043486046
SStotal=	2	5	0.407806716

		Si F_0>F, rechazo H_0
	F_0	40.780>18.51
F_1=	40.780	
F_2=	2.0546	

Figura 32. Análisis de varianza de la cantidad de biomasa en la experimentación de arsénico

Del resultado obtenido $F_0 > F_{(\alpha=0.5,1,2)}$, se debe rechazar H_0 con una significancia del 5 %. Con base en el resultado, se puede asegurar con un 95 % de confiabilidad que la cantidad de biomasa ejerce un efecto significativo sobre la remoción de arsénico en el agua.

El análisis de varianza del conjunto de datos en la experimentación con cadmio se muestra en la Figura 33 , el cual se realizó con una significancia del 5 %.

Cadmio	Bloque	Tratamiento					
Biomasa		1	2	3	Total	Promedio	Tot^2
menor a 5	1	1.1	1.6	0.9	3.6	1.2	13.2
entre 5 a 10	2	1.2	1.0	1.0	3.2	1.1	10.4
mayor a 10	3	0.2	0.2	0.0	0.4	0.1	0.1
	Total=	2.505	2.787	1.945	7.2	2.4	23.8
	Promedios=	0.8	0.928998009	0.648321534	2.0		
	Tot^2	6.28	7.77	3.78	17.83		
	y^2	2.73	3.62	1.87	8.21		

a=	3	a-1=	2
b=	3	b-1=	2
N=	9	(a-1)(b-1)=	4
		N-1=	8

Fuente Variación	Suma cuadrados	Grados de libertad	Promedio Cuadrados
SStra=	2	2	1.050102141
SSblo=	0	2	0.061240961
SSerror=	0	4	0.042798735
SStotal=	2	8	0.299235143

		Si F_0>F, rechazo H_0
	F_0	24.536>6.94
F_1=	24.53582211	
F_2=	1.430905882	

Figura 33. Análisis de varianza de la cantidad de biomasa en la experimentación de cadmio

Del resultado obtenido $F_0 > F_{(\alpha=0.5,2,4)}$, se debe rechazar H_0 con una significancia del 5 %. Con base en el resultado, se puede asegurar con un 95 % de confiabilidad que la cantidad de biomasa ejerce un efecto significativo sobre la remoción de cadmio en el agua.

El análisis de varianza del conjunto de datos en la experimentación con cobre se muestra en la Figura 34, el cual se realizó con una significancia del 5 %.

Cobre	Bloque	Tratamiento					
Biomasa		1	2	3	Total	Promedio	Tot^2
menor a 5	1	17.1	13.2	22.6	52.9	17.6	2798.2
entre 5 a 10	2	11.2	18.8	18.8	48.8	16.3	2383.7
mayor a 10	3	10.3	7.2	8.0	25.5	8.5	649.3
	Total=	38.570	39.251	49.382	127.2	42.4	5831.2
	Promedios=	12.9	13.08377011	16.46057542	42.4		
	Tot^2	1487.65	1540.67	2438.55	5466.87		
	y^2	523.46	580.61	927.95	2032.02		

a= 3 a-1= 2
b= 3 b-1= 2
N= 9 (a-1)(b-1)= 4
N-1= 8

Fuente Variación	Suma cuadrados	Grados de libertad	Promedio Cuadrados
SStra=	146	2	72.94738358
SSblo=	24	2	12.22113991
SSerror=	64	4	15.95738877
SStotal=	234	8	29.27082526

Si $F_0>F$, rechazo H_0

F_0

4.571>6.94

F_1= 4.571
F_2= 0.7659

Figura 34. Análisis de varianza de la cantidad de biomasa en la experimentación de cobre

Del resultado obtenido $F_0>F_{(\alpha=0.5,2,4)}$, no se debe rechazar H_0. Con base en el resultado, se puede asegurar con un 95 % de confiabilidad que la cantidad de biomasa no ejerce un efecto significativo sobre la remoción de cobre en el agua.

Comparación del pH (medios neutro y ácido)

A pesar de que se comprobó mediante las gráficas la eficiencia en la remoción de contaminantes en un medio ácido o un medio neutro, se verificó lo anterior realizando un análisis de varianza de un factor para determinar la diferencia en el resultado de la remoción de contaminantes del agua en medio ácido o neutro. El factor analizado fue el pH del agua inicial en el que fueron expuestas las especies. Este fue un factor cualitativo ya que solo se mencionó si el agua estaba en medio neutro o ácido. Este análisis de varianza se determinó para cada especie vegetal, así como para cada contaminante.

En la Figura 35 se observa el análisis de varianza para *Eichhornia crassipes* y como contaminante el arsénico. Cabe mencionar que antes de realizar el análisis de varianza fue necesario realizar la prueba de Cochran.

	Eichhornia crassipes	m							
	Factor		1	2	3		Total	Total^2	Media
	Neutro	1	1.854	1.724	0.773		4.351	18.927759	1.45020149
	ácido	2	2.321	1.350	0.851		4.5218244	20.446896	1.5072748
		Total	4	3	2		9	39	3
		Total^2	17	9	3		29.5		
		y2 =	8.82475134586900	4.7934703	1.3212517		14.9		
		x barra	2.087538734	1.5368187	0.811857				
		S^2	0.1	0.1	0.0		0		
		Cual S	0.600	0.4	0.017				
a=	2	a-1=	1			Cochran:		G=s2 max/Σ	0.498
b=	3	b-1=	2			con α=0.01		Comparaci	RR=[g>gα]: No RR
N=	6	(a-1)(b-1)=	2			gα=g(n,k)=g(2,3)=0.966		RR=[0.498>0.966]	
		N-1=	5						
Fuente de variación		Grados de lib	medio Cuadrados						
Sstrat	0	1	0.0049						
Ssblo=	1.637484081	2.00	0.8187						
Sserror=	0	2	0.0886						
Sstotal=	1.819474349	5	0.3639			Si Fo>F, rechazo Ho			
				F0		0.055>18.51			
			F1=	0.055					
			F2=	9.246					

Figura 35. Análisis de varianza del factor pH en la experimentación de arsénico con *Eichhornia crassipes*

Este procedimiento fue el mismo para *Myriophyllum aquaticum* y *Wolffia columbiana* con cada uno de los contaminantes estudiados.

Tabla 18. Resultados del análisis de varianza para determinar el efecto del pH en la remoción de arsénico

Especie vegetal	F_0	$F_0 > F_{0.05\ (1,2)}$	Significancia	Resultado
Eichhornia crassipes	0.373	0.373>18.512	No	Se rechaza H_a
Myriophyllum aquaticum	1.411	1.411>18.512	No	Se rechaza H_a
Wolffia columbiana	0.055	0.055>18.512	No	Se rechaza H_a

Al emplear *Eichhornia crassipes, Myriophyllum aquaticum* y *Wolffia columbiana* no se presentó una diferencia significativa en la remoción de arsénico al presentar un pH ácido o neutro en el agua, con una confiabilidad del 95 %.

Tabla 19. Resultados del análisis de varianza para determinar el efecto del pH en la remoción de cadmio

Especie vegetal	F_0	$F_0 > F_{0.05\ (1,2)}$	Significancia	Resultado
Eichhornia crassipes	58.120	58.120>18.52	Sí	Se rechaza H_0
Myriophyllum aquaticum	26.328	26.328>18.52	Sí	Se rechaza H_0
Wolffia columbiana	18.835	18.835>18.52	Sí	Se rechaza H_0

Con las tres especies vegetales se demostró que hay una diferencia significativa en la remoción de cadmio, presentando un efecto favorable al tener un pH neutro, esto con una confiabilidad del 95 %.

Tabla 20. Resultados del análisis de varianza para determinar el efecto del pH en la remoción de cobre

Especie vegetal	F_0	$F_0 > F_{0.05\ (1,2)}$	Significancia	Resultado
Eichhornia crassipes	26.187	26.187>18.52	Sí	Se rechaza H_0
Myriophyllum aquaticum	1.581	1.581>18.52	No	Se rechaza H_a
Wolffia columbiana	3.036	3.036>18.52	No	Se rechaza H_a

Se observó que no hay diferencia significativa en la remoción de cobre al presentar un pH ácido o neutro en el agua, esto al emplear las especies *Myriophyllum aquaticum y Wolffia columbiana,* sin embargo, al usar *Eichhornia crassipes* si existió un efecto favorable en la remoción de cobre al estar en un pH neutro, con 95 % de confiabilidad.

Comparación de los contaminantes, en mezcla y solos

Para determinar si hubo un efecto favorable en la remoción de arsénico, cadmio y cobre al estar presentes en el agua de manera mezclados o solos, se realizó un análisis de varianza para demostrar tal efecto, ya que de igual modo se puede observar si tiene algún efecto en la competitividad de los metales en mezcla.

Se observa en la Figura 36 el análisis de varianza para la especie *Wolffia columbiana* con cadmio. Cabe mencionar que antes de realizar el análisis de varianza fue necesario realizar la prueba de Cochran.

Cadmio	Factor		1	2	3	Total	Total²	Media
Wolffia columbiana	Mezcla	1	0.449	0.496	0.649	1.594	2.541	0.531
	Solos	2	1.170	0.765	0.774	2.709	7.339	0.903
		Total	1.620	1.261	1.423	4.303	9.880	1.434
		Total²	2.623	1.590	2.024	6.237		
		y² =	1.571	0.831	1.020	3.422		
		x barra	0.810	0.630	0.711			
		S²	0.260	0.036	0.008	0.304		
		G=	0.855					

a=	2	a-1=	1
b=	3	b-1=	2
N=	6	(a-1)(b-1)=	2
		N-1=	5

Cochran: G=S² max/ΣSi²= 0.855

con α=0.01 Comparación: RR=[g>gα]: No RR

gα=g(a,b)=g(2,3)=0.966 RR=[0.855>0.966]

α=0.05

Fα(a-1,(a-1)(b-1))

Fα=0.05(1,2)

Fuente de variación		Grados de libertad	Promedio Cuadrados	
Sstrat	0	1	0.2072	
Ssblo=	0.032275172	2	0.0161	
Sserror=	0	2	0.0483	Si Fo>F, rechazo Ho
Sstotal=	0.3360047	5	0.0672	4.293>18.51

Fo

F₁= 4.293

F₂= 0.334

Figura 36. Análisis de varianza del factor pH en la experimentación de cadmio con *Wolffia columbiana*

Tabla 21. Resultados del análisis de varianza para determinar el efecto de los contaminantes en mezcla o solos en la remoción de arsénico

Especie vegetal	F_0	$F_0 > F_{0.05\ (1,2)}$	Significancia	Resultado
Eichhornia crassipes	34.837	34.837>18.512	Sí	Se rechaza H_0
Myriophyllum aquaticum	37.540	37.540>18.512	Sí	Se rechaza H_0
Wolffia columbiana	10.326	10.326>18.512	No	Se rechaza H_a

Cuando se emplearon las especies *Eichhornia crassipes* y *Myriophyllum aquaticum* se demostró que hay una diferencia significativa en la remoción de arsénico, presentando un efecto favorable al estar mezclado con cadmio y cobre con una confiabilidad del 95 %. Por otro lado, *Wolffia columbiana* no presentó una diferencia significativa al remover arsénico estando en mezcla o solo.

Tabla 22. Resultados del análisis de varianza para determinar el efecto de los contaminantes en mezcla o solos en la remoción de cadmio

Especie vegetal	F_0	$F_0 > F_{0.05\ (1,2)}$	Significancia	Resultado
Eichhornia crassipes	0.421	0.42>18.512	No	Se rechaza H_a
Myriophyllum aquaticum	338.434	338.43>18.512	Sí	Se rechaza H_0
Wolffia columbiana	4.293	4.29>18.512	No	Se rechaza H_a

Al emplear las especies *Eichhornia crassipes* y *Wolffia columbiana* no se presentó una diferencia significativa en la remoción de cadmio al estar mezclado o solo en el agua. Mientras que al usar la especie *Myriophyllum aquaticum* se demostró que hay una diferencia significativa del 95 % en el que existió un efecto favorable en la remoción de cadmio del agua al estar mezclado con los demás contaminantes.

Tabla 23. Resultados del análisis de varianza para determinar el efecto de los contaminantes en mezcla o solos en la remoción de cobre

Especie vegetal	F_0	$F_0 > F_{0.05\ (1,2)}$	Significancia	Resultado
Eichhornia crassipes	14.180	14.18>18.512	No	Se rechaza H_a
Myriophyllum aquaticum	119.881	119.88>18.512	Sí	Se rechaza H_0
Wolffia columbiana	263.812	263.81>18.512	Sí	Se rechaza H_0

La remoción de cobre no fue afectada al estar este contaminante en mezcla o solo ya que no se observó diferencia significativa, utilizando la especie *Eichhornia* crassipes. Mientras que al emplear *Wolffia columbiana* y *Myriophyllum aquaticum* se demostró que hay una diferencia significativa en la remoción de cobre, presentando un efecto favorable al estar mezclado con arsénico y cadmio con una confiabilidad del 95 %.

Efecto de la acumulación de los contaminantes en las especies *Myriophyllum aquaticum* y *Wolffia columbiana* con respecto al control *Eichhornia crassipes*

Al hacer una experimentación y desear conocer el impacto de una variable en el comportamiento general de la experimentación, es necesario designar un control dentro de todos los experimentos, para poder hacer una comparación y demostrar las aportaciones de cada experimento. En el control se considera que este debió tener las mismas condiciones que el resto de los experimentos. Se decidió que *Eichhornia crassipes* fuera el control de la experimentación, ya que es la especie más estudiada y reportada en la literatura y se desea comparar la capacidad de acumulación de los contaminantes con respecto a las especies *Myriophyllum aquaticum* y *Wolffia columbiana.*

El análisis estadístico de la prueba Dunnett, para comparar la sirena y lentejuela con respecto al lirio, en cuanto a la capacidad de acumulación de cadmio estando mezclado y a pH neutro se muestra la hoja de cálculo en la Figura 37.

Cadmio			Lirio	Sirena	Lentejuela			
Mezcla			10804.12	9606.03	10682.17			
			9157.13	17571.55	9398.03			
		Total	19961.2474	27177.5851	20080.19648		67,219	
		Total²	398451396	738621131	403214290.7		1,540,286,818	
		yi²	200581982	401035284	202431661		804,048,927	
		μ	9980.6	13588.8	10040.1		33,610	
a=	2							
b=	2					RR	d(a,r)=	
r	3			D=√(2*S²)/b	3361.820857		d(2,3)=	2.91
				d_1=sirena=	1.0733	NO		
SSE=	33905518.4			d_2=lentejuela=	0.0177	NO		
S=	11301839.5							

Figura 37. Prueba Dunnett para la experimentación de cadmio en mezcla

Tabla 24. Resultados de la prueba Dunnett para la acumulación de arsénico

Especie vegetal	d_0	$d_0 > d_{0.05\ (2,3)}$	Significancia	Resultado
Mezcla, pH neutro	d_1=sirena=-5.669	5.669>2.91	Sí	Se rechaza H_0
	d_2=lentejuela=1.258	1.258>2.91	No	Se rechaza H_a
Mezcla, pH ácido	d_1=sirena= -4.288	4.288>2.91	Sí	Se rechaza H_0
	d_2=lentejuela= -4.114	4.114>2.91	Sí	Se rechaza H_0
Solos, pH neutro	d_1=sirena= -16.542	16.542>2.91	Sí	Se rechaza H_0
	d_2=lentejuela= -10.891	10.891>2.91	Sí	Se rechaza H_0

No existe una diferencia significativa entre la especie *Myriophyllum aquaticum* y *Eichhornia crassipes* en la acumulación de arsénico en sus tejidos, en todas experimentaciones con arsénico. De igual modo la especie *Wolffia columbiana* tampoco presentó diferencia significativa con respecto a la capacidad de acumulación de arsénico con *Eichhornia crassipes* en dos experimentaciones, sin embargo, al estar el arsénico en mezcla a un pH neutro, si se observó diferencia significativa en la acumulación de *Wolffia columbiana* con respecto a *Eichhornia crassipess* con una confiabilidad del 95 %.

Tabla 25. Resultados de la prueba Dunnett para la acumulación de cadmio

Especie vegetal	d_0	$d_0 > d_{0.05\ (2,3)}$	Significancia	Resultado
Mezcla, pH neutro	d_1=sirena= 3.641	3.641>2.91	Sí	Se rechaza H_0
	d_2=lentejuela= -2.564	2.564>2.91	No	Se rechaza H_a
Mezcla, pH ácido	d_1=sirena= -1.511	1.511>2.91	No	Se rechaza H_a
	d_2=lentejuela= -1.137	1.137>2.91	No	Se rechaza H_a
Solos, pH neutro	d_1=sirena= -4.260	4.260>2.91	Sí	Se rechaza H_0
	d_2=lentejuela= -5.040	5.040>2.91	Sí	Se rechaza H_0

Cuando los contaminantes estaban mezclados y a un pH neutro, hay diferencia significativa en la capacidad de acumular cadmio con *Myriophyllum aquaticum* y *Eichhornia crassipes*, mientras que con *Wolffia columbiana* no hay diferencia en la capacidad de acumular cadmio con respecto a *Eichhornia crassipes*, con una confiabilidad del 95 %. En la experimentación en la que los contaminantes estaban en mezcla y en pH ácido no existió una diferencia significativa entre las especies *Myriophyllum aquaticum* y *Wolffia columbiana*, con la especie *Eichhornia crassipes* en su capacidad de acumular cadmio en sus tejidos, con una confiabilidad del 95 %. Existe una diferencia significativa del 95 % en la capacidad de acumular cadmio, cuando esté se encontraba a pH neutro y sin mezclarse, con respecto a *Myriophyllum aquaticum* y *Wolffia columbiana*, con la especie *Eichhornia crassipes.*

Tabla 26. Resultados de la prueba Dunnett para la acumulación de cobre

Especie vegetal	d_0	$\lvert d_0 > d_{0.05\ (2,3)} \rvert$	Significancia	Resultado
Mezcla, pH neutro	d_1=sirena=1.073	1.073>2.91	No	Se rechaza H_a
	d_2=lentejuela=0.018	0.018>2.91	No	Se rechaza H_a
Mezcla, pH ácido	d_1=sirena= -0.127	0.127>2.91	No	Se rechaza H_a
	d_2=lentejuela=0.714	0.714>2.91	No	Se rechaza H_a
Solos, pH neutro	d_1=sirena= -0.944	0.944>2.91	No	Se rechaza H_a
	d_2=lentejuela=0.564	0.564>2.91	No	Se rechaza H_a

No existe una diferencia significativa entre las especies *Myriophyllum aquaticum* y *Wolffia columbiana*, con la especie *Eichhornia crassipes* en la capacidad de acumular cobre en sus tejidos, en todas las experimentaciones con cobre, con una confiabilidad del 95 %.

Tabla 27. Análisis del modelo de Michaelis-Menten

Ecuación	Análisis dimensional
$V = \frac{V_{max} C}{k_m + C} M$	$\frac{mg}{h} = \frac{\left(\frac{mg}{kg \cdot h}\right)\left(\frac{mg}{L}\right)}{\left(\frac{mg}{L}\right) + \left(\frac{mg}{L}\right)}\ kg$
$\frac{V}{M} = \frac{V_{max} C}{k_m + C}$	$\frac{\left(\frac{mg}{h}\right)}{kg} = \frac{\left(\frac{mg}{kg \cdot h}\right)\left(\frac{mg}{L}\right)}{\left(\frac{mg}{L}\right) + \left(\frac{mg}{L}\right)}$
$\frac{M}{V} = \frac{k_m + C}{V_{max} C}$	$\frac{kg}{\left(\frac{mg}{h}\right)} = \frac{\left(\frac{mg}{L}\right) + \left(\frac{mg}{L}\right)}{\left(\frac{mg}{kg \cdot h}\right)\left(\frac{mg}{L}\right)}$
$\frac{M}{V} = \frac{k_m}{V_{max} C} + \frac{C}{V_{max} C}$	$\frac{kg}{\left(\frac{mg}{h}\right)} = \frac{\left(\frac{mg}{L}\right)}{\left(\frac{mg}{kg \cdot h}\right)\left(\frac{mg}{L}\right)} + \frac{\left(\frac{mg}{L}\right)}{\left(\frac{mg}{kg \cdot h}\right)\left(\frac{mg}{L}\right)}$
$\frac{M}{V} = \frac{k_m}{V_{max}}\left(\frac{1}{C}\right) + \frac{1}{V_{max}}$	$\frac{kg}{\left(\frac{mg}{h}\right)} = \frac{\left(\frac{mg}{L}\right)}{\left(\frac{mg}{kg \cdot h}\right)}\left(\frac{1}{\left(\frac{mg}{L}\right)}\right) + \frac{1}{\left(\frac{mg}{kg \cdot h}\right)}$

Para obtener los parámetros cinéticos del modelo de Michaelis-Menten se graficó (M/V) *vs* (1/C), para obtener la ecuación de la recta.

$$\frac{M}{V} = \frac{k_m}{V_{max}}\left(\frac{1}{C}\right) + \frac{1}{V_{max}}$$

Biomasa (M): es la cantidad total de planta generada al final de la fitoextracción en base seca [kg]

Velocidad (V): es la velocidad de remoción del contaminante [mg h^{-1}] y fue estimada como el producto de (C_p) que es la concentración del contaminante en la planta al final de la fitoextracción [mg kg^{-1}] por la tasa de crecimiento de la planta (T_c) (expresada como la biomasa de la planta al final de la fitoextracción entre el tiempo de contacto en el agua residual) [kg h^{-1}].

$$V = C_p \; T_c$$

Concentración del contaminante (C): es la concentración inicial del contaminante en el agua residual [mg L^{-1}].

Velocidad máxima de remoción (V_{max}): se obtiene a partir del inverso de la ordenada de la ecuación de la recta [mg kg^{-1} h^{-1}].

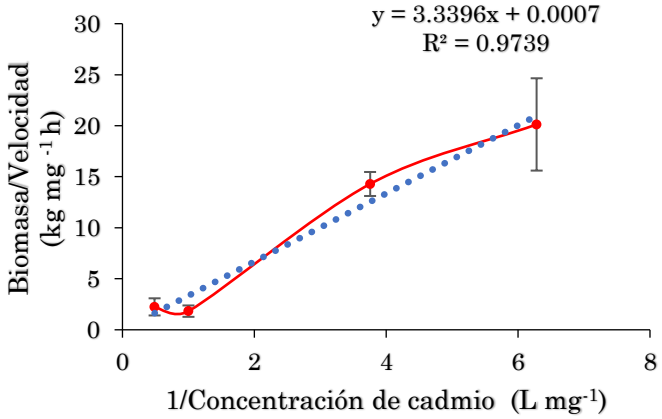
La constante de Michaelis-Menten (k_m): es el producto de la pendiente de la ecuación de la recta por la velocidad máxima de remoción [mg L^{-1}].

En la Tabla 28 se muestran las variables necesarias para graficar la cinética de fitoextracción de cadmio mediante la especie *Wolffia columbiana*.

Tabla 28. Variables del modelo de Michaelis-Menten en la fitoextracción de cadmio mediante *Wolffia columbiana*

C (mg L^{-1})	1/C (L mg^{-1})	M (kg)	C_p (mg kg^{-1})	T_c (kg h^{-1})	V (mg h^{-1})	M/V (kg mg^{-1} h)
0.16	6.28	0.00195	75.36	1.3517E-06	0.00010	20.13
0.27	3.76	0.00182	101.46	1.2615E-06	0.00013	14.29
0.99	1.01	0.00595	868.14	4.1318E-06	0.00367	1.83
2.05	0.49	0.00612	745.15	4.247E-06	0.00336	2.25

Por lo tanto, se graficó (M/V) *vs* (1/C) con los datos de la Tabla 28 y se obtuvó la ecuación de la recta, para así determinar los parámetros cinéticos V_{max} y k_m.



Anexos

Métodos analíticos detallados

Cuantificación de metales en el agua

La cuantificación de metales en el agua se realizó mediante espectrofotometría de absorción atómica, empleando los métodos EPA 3015A (U. S. EPA, 2007) y NMX-AA-051 (DOF, 2016), en un espectrofotómetro de absorción atómica Varian de modelo SpectrAA-200.

El método de la EPA 3015A (Digestión ácida asistida por microondas de muestras y extractos acuosos). Este método está diseñado para realizar la extracción mediante calentamiento con un microondas y el uso de ácido nítrico (HNO_3). Para la digestión ácida se tomaron 45 mL de cada muestra y 45 mL de agua destilada (blanco), fueron colocados en vasos especiales para microondas, posteriormente se adicionaron 5 mL de HNO_3 concentrado. Los vasos se cerraron y colocaron dentro de un horno de microondas modelo MARS-X, después del tiempo de espera de la digestión acida, se sacaron los vasos, se filtró su contenido en matraces de 50 mL, por último, se aforaron para tener las muestras con los metales en estado basal.

Posteriormente se aplicó el método NMX-AA-051-SCFI-2016 (Análisis de agua. - medición de metales por absorción atómica en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas- método de prueba) que establece el método de espectrofotometría de absorción atómica por medio de atomización por flama, horno de grafito, generador de hidruros y vapor frío para la medición de metales disueltos, totales, suspendidos y extractables en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas.

El método se basa en la generación de átomos en estado basal y en la medición de la cantidad de energía absorbida por éstos, la cual es directamente proporcional a la concentración del elemento en la muestra analizada, esta medición se realizó en el espectrofotómetro de absorción atómica Varian SpectrAA-200.

Una vez realizada la digestión acida a cada una de las muestras se procede a leer directamente en el espectrofotómetro la concentración de cadmio y cobre debido a que el método indica que es por flama y su lectura puede ser inmediata.

Sin embargo, para determinar arsénico el método establece que su lectura debe ser por generación de hidruros. El arsénico en las muestras puede encontrarse en forma trivalente (III), pentavalente (V) o en su forma orgánica.

Para la aplicación exitosa del método de generación de hidruros, todas las formas del arsénico en el agua se deben reducir hasta lograr el arsénico en su forma (III).

Se añade a las muestras una solución de KI y HCl, dejándolas reposar durante 50 minutos a temperatura ambiente.

$$As^{V} + 2I^{-} \rightarrow^{H^{+}} As^{III} + I_2$$

A continuación, el borohidruro de sodio se adiciona a la muestra y entra en contacto con el ácido en que se encuentra está y se descompone liberando hidrogeno atómico y molecular.

$$NaBH_4 \rightarrow^{H^{+}} 2H. + H_2$$

El hidrógeno, al entrar en contacto con el arsénico (III), lo reduce formando la arsina (AsH_3), que es un compuesto volátil.

$$As^{3+} + 3H. \rightarrow^{H^{+}} AsH_3$$

Un gas inerte arrastra el hidruro de arsénico (AsH_3) junto con el hidrogeno restante hasta la celda de descomposición. Esta celda debe encontrarse del orden de 2,000 °C para lograr una descomposición instantánea de la arsenia en sus elementos. Dicha descomposición comienza a ser notable a partir de 300 °C.

$$As^{3+} \rightarrow^{Calor} As^{0} + 3H$$

El arsénico elemental producido en la celda se encuentra en las mejores condiciones para la absorción de luz que atraviesa la celda

Los reactivos empleados durante la medición de arsénico en el espectrofotómetro fueron, HCl 5 N y $NaBH_4$ al 35%. Para la preparación de la muestra: se colocaron 0.5 mL de cada muestra a excepción del blanco, se colocaron en contenedores de 20 mL, se añadió 17.9 mL de agua desionizada, 0.8 mL del HCl concentrado y por último se agregaron 0.8 mL de KI al 20%, este último se agregó en cada muestra con un tiempo de espera de 30 segundos. Preparación del blanco: se colocaron 15 mL de la muestra blanco, se colocaron en contenedores de 20 mL se

añadió 3.4 mL de agua desionizada, 0.8 mL del HCl concentrado y por último se agregaron 0.8 mL de KI al 20%.

Cuantificación de metales en el tejido vegetal

La cuantificación de metales en el tejido vegetal se realizó mediante espectrofotometría de absorción atómica, empleando los métodos EPA 3051A (U.S. EPA, 2007) y NMX-AA-051 (DOF, 2016), en un espectrofotómetro de absorción atómica Varian de modelo SpectrAA-200. Para la determinación de los metales fue necesario realizar una digestión acida a las muestras mediante el método de la EPA 3051A (Digestión ácida asistida por microondas de sedimentos, lodos, suelos y aceites). Para la digestión acida se separó la planta en raíz y parte aérea, se secaron a temperatura ambiente, se trituraron y pesaron 0.5 g de cada muestra en base seca, fueron colocados en vasos especiales para microondas, posteriormente se adicionaron 10 mL de HNO_3 concentrado, para el blanco solamente se adicionaron 10 mL de ácido nítrico concentrado.

Los vasos se cerraron y colocaron dentro del horno de microondas. Después del tiempo de espera de la digestión acida, se sacaron los vasos, se filtró su contenido en matraces de 50 mL, por último, se aforaron para tener las muestras con los metales en estado basal. Posteriormente se aplicó el método NMX-AA-051-SCFI-2016, como anteriormente se describió para la lectura de los metales.