UNIVERSIDAD CENTRAL “MARTA ABREU” DE LAS VILLAS
FACULTAD QUÍMICA Y FARMACIA

TRABAJO DE DIPLOMA

# Título: Evaluación de la remoción de cromo total y níquel en humedales subsuperficiales

Autor: Julio César Pedrozo Alfonso
Tutora: Dra. Maira María Pérez Villar

Santa Clara, 2017

## PENSAMIENTO

*La historia de la ciencia nos demuestra que toda teoría es perecedera. Con cada verdad que nos es revelada ganamos un mejor entendimiento de la Naturaleza, y nuestras concepciones y vicisitudes cambian por completo.*

*Nikola Tesla.*

# DEDICATORIA

*A mi hijo, César Caleb por ser el motivo de todo mi esfuerzo, a mi esposa por su comprensión incondicional, a mi madre por su apoyo y preocupación y a mi papá por incitarme con su ejemplo a descubrir la magia de las Ciencias Químicas.*

## AGRADECIMIENTOS

- *A Dios por permitir que esta obra se hiciera realidad.*
- *A mi familia, por estar a mi lado sin escatimar esfuerzos.*
- *A mis amigos, por tolerarme.*
- *A todas las personas que de una forma u otra contribuyeron a que este sueño se hiciera realidad.*
- *A mi tutora por su apoyo incondicional y su esmerada asesoría.*

## RESUMEN

El presente trabajo está dirigido a evaluar la remoción de níquel y cromo mediante humedales subsuperficiales. Se evalúan dos sistemas experimentales, en diferentes tiempos de exposición al metal y con tres especies de plantas. La eficiencia de remoción obtenida en el humedal plantado con Heliconia para ambos metales, es superior al 98%. Se determina además, la retención del metal en las diferentes partes de las plantas, obteniéndose una mejor capacidad de acumulación de metales en el *Cyperus Alternifulius* y dentro de las Heliconias la *Rostrata,* predominando el níquel en las hojas y el cromo en las raíces. Se efectúan extracciones simples obteniéndose las mayores concentraciones de los metales en los extractos con EDTA. Se realizan extracciones secuenciales para conocer las especies predominantes a las que se asocian los metales en el suelo, obteniéndose la mayor concentración de los metales en la fracción residual con el transcurso del tiempo. Finalmente se evalúa la cinética de remoción de los contaminantes en el humedal, alcanzándose un mejor ajuste al modelo Monod para el níquel en el humedal plantado con Heliconia, coincidiendo con lo obtenido en estudios anteriores para el *Cyperus Alterniufolius*.

## ABSTRACT

The present work is aimed at evaluating the removal of nickel and chromium by subsurface wetlands. Two experimental systems are evaluated, in different metal exposure times and with different plant species. The removal efficiency obtained in the wetland planted with Heliconia is higher than 98% for both metals taking into account the standard solutions and the INPUD residual water. It is also determined the retention of the metal in the different parts of the plants, obtaining a better capacity of metal accumulation in the *Cyperus Alternifulius* and in the *Rostrata*, one of the *Heliconia* species. Besides, it is observed a predominance of nickel accumulation in the leaves due to its great bioavailability in the soil. This bioavailability coincides with the higher concentration of nickel obtained in the simple extractions with EDTA. Sequential extractions are made to know the predominant species to which the metals are associated with in the soil, obtaining the highest concentration of the metals in the residual fraction with the passage of time. Finally, the removal kinetics of pollutants in the wetland is evaluated, with a better adjustment to the Monod model for nickel in the *Heliconia* planted wetland, in agreement with previous studies for *Cyperus Alterniufolius.*

# ÍNDICE

INTRODUCCIÓN ..... 1
Problema científico: ..... 2
Hipótesis: ..... 2
Objetivo General: ..... 2
Objetivos Específicos: ..... 2
CAPÍTULO 1. MARCO TEÓRICO ..... 4
1.1-Contaminación ..... 4
1.1.1-Contaminación del agua ..... 4
1.1.2-Aguas residuales de la industria galvánica ..... 5
1.1.3-Contaminación ambiental con Ni y Cr ..... 5
1.2-Tratamientos de las aguas residuales ..... 6
1.3-Humedales construidos o artificiales ..... 7
1.3.1-Clasificación de los humedales ..... 8
1.3.4-Componentes de un humedal ..... 10
1.3.5-Mecanismos de remoción de metales en los humedales subsuperficiales ..... 13
1.3.6-Modelos cinéticos ..... 17
1.4-Determinación de Ni y Cr ..... 19
1.4.1-Digestión de las muestras ..... 19
1.4.3-Determinación ..... 21
1.5-Extracciones químicas ..... 22
Extracciones químicas secuenciales ..... 23
*2.1-Selección y caracterización de los componentes del humedal* ..... 28
2.1.1-Plantas. ..... 28
2.1.1.2-Digestión de la planta para la determinación de los metales ..... 29
2.1.1.3-Determinación de níquel (II) y cromo total utilizando Espectrometría de Absorción Atómica ..... 30
2.1.2.-Suelo ..... 32
*pH acuoso y potásico* ..... 33

*Conductividad eléctrica* ..... 34

2.1.2.2-Digestión preliminar ..... 35

*2.1.2.3-Extracciones simples.* ..... 35

*Extracción de níquel (II)y Cromo total con agua desionizada* ..... 35

2.1.2.4-Extracciones secuenciales ..... 37

2.2-Cinética y eficiencia de remoción ..... 39

CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN ..... 40

3.1-Influencia de la planta en la remoción de metales ..... 40

3.1.1-Evaluación del comportamiento de níquel II y cromo total en las plantas *Cyperus Alternifolius, Heliconia Rostrata y Heliconia Wagneriana* ..... 40

3.2-Influencia del suelo en la remoción de los metales ..... 42

3.3.2-Determinación de níquel y cromo en el agua residual del INPUD ..... 58

3.3.3-Eficiencia de la remoción de níquel II y cromo total en el sistema de tratamiento experimental II ..... 59

CONCLUSIONES ..... 60

RECOMENDACIONES ..... 61

BIBLIOGRAFÍA ..... 62

# INTRODUCCIÓN

En el acontecer mundial, existen innumerables estudios que nos proporcionan datos alarmantes acerca del impacto negativo que el hombre ocasiona a los recursos hídricos en todo el planeta, el cual se ha caracterizado por la sobrepoblación y el gran crecimiento tecnológico, que amenazan seriamente la dotación del recurso agua para las futuras generaciones. Se ha incrementado la contaminación de los cuerpos receptores debido al manejo inadecuado de las aguas residuales de origen urbano, industrial y agrícola, por lo que la depuración de las mismas es una necesidad imperiosa de la sociedad moderna.

Pesticidas, desechos químicos, metales pesados, residuos radiactivos, hidrocarburos etc., se encuentran, en cantidades mayores o menores, al analizar las aguas de los más remotos lugares del mundo. Tratar el agua de uso industrial en el área donde se consume o utiliza, así como su adecuado tratamiento al final del proceso productivo o servicio realizado como agua residual es muy importante tanto para la salud y preservación de las especies como para que las comunidades alcancen un nivel satisfactorio de desarrollo sostenible, sin poner en riesgo la satisfacción de necesidades y aspiraciones de las generaciones futuras.

Nuestro país cuenta con industrias galvánicas cuya función es el recubrimiento de superficies con el objetivo de modificar las características del material base, principalmente resistencia a la corrosión, dureza, apariencia, conductividad eléctrica y rozamiento. En estas instalaciones, durante su actividad de tratamiento de superficies, se producen efluentes líquidos, constituyendo uno de los desechos industriales inorgánicos de mayor poder contaminante.

La Industria Nacional Productora de Utensilios Domésticos (INPUD) de Villa Clara realiza el tratamiento de superficies, produciendo efluentes líquidos con concentraciones superiores a los límites permitidos de metales en disolución, como cromo y níquel. El sistema de tratamiento para estos residuales no cumple lo establecido en la legislación vigente (NC: 27, 2012), pudiendo provocar daños al suelo, a las aguas superficiales, subterráneas y a la población en general.

Los métodos tradicionales desarrollados para el tratamiento de estas aguas residuales presentan como principales desventajas las bajas eficiencias en la depuración, los altos costos de operación, insumos y requerimientos, obligando a la búsqueda de nuevas soluciones. Los humedales construidos están considerados como instalaciones de tratamiento biológico de bajo costo tecnológico, fáciles de operar y mantener ya que requieren un bajo número de operarios y pocos equipos electromecánicos, además de su sencillez de construcción, consumo energético mínimo y armonía con el medio ambiente. El sustrato y las plantas son unos de los principales componentes de dichos sistemas, esta última influye en gran medida en la remoción de metales pesados según su metabolismo y el sustrato es de suma importancia por ser el medio donde ocurre la mayoría de los procesos físico-químico.

**Problema científico:**

¿Cómo lograr una alternativa de bajo costo y alta eficiencia para la remoción de cromo total y níquel (II) mediante humedales subsuperficiales con suelo ferralítico rojo?

**Hipótesis:**

Si se evalúan los diferentes componentes de los humedales subsuperficiales entonces se puede proponer un sistema de tratamiento de bajo costo y alta eficiencia para las aguas residuales contaminadas con cromo total y níquel (II).

**Objetivo General:**

Evaluar la remoción de cromo total y níquel (II) en humedales subsuperficiales con suelo ferralítico rojo.

**Objetivos Específicos:**

1. Comparar la retención de cromo total y níquel (II) en las diferentes partes de las plantas *Cyperus Alternifolius, Heliconias Rostrata* y *Wagneriana.*
2. Realizar extracciones simples y secuenciales de los metales en el suelo ferralítico rojo sembrado con *Cyperus Alternifolius* y con *Heliconias Rostrata y Wagneriana.*

3. Determinar la eficiencia y la cinética de remoción de cromo total y níquel (II) en el humedal subsuperficial con dos especies de *Heliconia.*

# CAPÍTULO 1. MARCO TEÓRICO

## 1.1-Contaminación

La contaminación se define como la presencia en el medio ambiente de una o más sustancias así como cualquier combinación de ellas, teniendo en cuenta toda forma de energía, como calor, radiactividad, ruidos y vibraciones que al actuar sobre los diferentes componentes del medio (aire, agua o suelo) originan efectos adversos sobre la salud y el bienestar humano, la flora, la fauna y los niveles de calidad ambiental de determinados ecosistemas (CENTA, 2005).

### 1.1.1-Contaminación del agua

La contaminación química puede originarse como resultado de compuestos orgánicos e inorgánicos disueltos o dispersos en el agua, como pueden ser hidrocarburos, detergentes, plásticos, pesticidas, metales pesados, derivados del azufre y del nitrógeno.

Los contaminantes de carácter inorgánicos están constituidos por diversos productos disueltos o dispersos en el agua que provienen de descargas domésticas, agrícolas e industriales. Entre sus principales exponentes se encuentran los cloruros, sulfatos, carbonatos, nitratos y metales pesados. En dichos metales un buen número de elementos en cantidades pequeñas como el hierro, manganeso, cobre, cinc y níquel son necesarios para el metabolismo de los organismos, sin embargo, pueden llegar a ser tóxicos a ciertos niveles. Hay metales que ni son necesarios, ni se les conoce efectos beneficiosos alguno sobre los seres vivos, siendo tóxicos aun en pequeñas cantidades, tal es el caso del mercurio, cadmio, plomo y cromo (Mitchell y McNevin, 2001).

Suman también los de carácter orgánico que son los compuestos disueltos o dispersos en el agua que provienen de desechos domésticos, agrícolas, industriales y de la erosión del suelo, también los desechos humanos y animales de rastros o mataderos, del procesamiento de alimentos para humanos y animales.

### 1.1.2-Aguas residuales de la industria galvánica

Las aguas residuales galvánicas se consideran uno de los desechos residuales inorgánicos más peligrosos por su alto poder corrosivo y su elevada toxicidad. Las impurezas que se pueden encontrar son cuantiosas, de naturaleza disímil, de concentración diferente y de tamaño heterogéneo. La actividad de tratamiento de superficies produce fundamentalmente efluentes líquidos de dos tipos; por un lado, cargas contaminantes altas, en volúmenes relativamente pequeños, de los efluentes generados en los baños de proceso, y por otro, efluentes con cargas contaminantes diluidas en grandes volúmenes de agua, de los efluentes procedentes de los enjuagues o lavados (Degremont, 1979). Los principales residuos resultantes de la actividad son: aceites, grasas, espumas, minerales solubles como bicarbonatos, sulfatos, nitratos, cloruros, cianuros, gases disueltos como $CO_2$, $H_2S$, $NH_3$, emulsionantes (orgánicos y tensoactivos), aditivos (inorgánicos y orgánicos, para inducir el refinamiento del grano y la nivelación de la superficie del recubrimiento), y principalmente una apreciable concentración de metales como resultado de la disolución metálica de las piezas de trabajo (Meftcalf y Eddy, 1995)

### 1.1.3-Contaminación ambiental con Ni y Cr

El níquel y el cromo constituyen un riesgo para el medio ambiente, ya que son sustancias con una gran estabilidad química ante los procesos de biodegradación, por lo que los seres vivos son incapaces de metabolizarlos, generándose una contaminación por bioacumulación y un efecto multiplicador en la concentración del contaminante en la cadena trófica (Hargreaves et al., 2017).

Una de las mayores fuentes de contaminación con níquel y cromo en las aguas provienen de drenajes de minas, tenerías e industrias galvánicas. El complejo tratamiento convencional para la remoción de dichos metales hace que se encarezca el proceso y la mayoría de las entidades los vierta hacia el cuerpo receptor sin cumplir con el límite de vertimiento.

El cromo es considerado no esencial para plantas, pero es un elemento traza esencial para animales. Los compuestos hexavalentes han sido

mostrados como carcinogénicos por inhalación y son corrosivos para los tejido (APHA et al., 2005). La EPA (US Environmental Protection Agency) incluye en la lista de contaminantes prioritarios como elementos traza al cromo y el níquel por su disponibilidad y toxicidad (EPA, 2000; Shahid et al., 2017).

Diversos estudios demuestran que el Ni en plantas acuáticas presenta factores de bioconcentración muy altos. En peces, la concentración de este metal alcanza valores de 0.02 a 2 mg/kg, incrementándose hasta diez veces en lugares muy contaminados (Tang et al., 2017).

## 1.2-Tratamientos de las aguas residuales

Las aguas residuales se pueden someter a diferentes etapas de tratamiento, dependiendo del grado de purificación que se quiera. Es común hablar de tratamiento primario, secundario y terciario, según el acoplamiento entre ellos aunque los límites no estén totalmente definidos (Fernández, 2003). Así se pueden identificar diferentes etapas:

*Tratamiento preliminar:* Tiene como principal objetivo eliminar de las aguas residuales todos aquellos elementos de tamaño considerable que por su acción mecánica pueden afectar al funcionamiento del sistema depurador, así como las arenas y elementos minerales que puedan originar sedimentación a lo largo de las conducciones.

*Tratamiento primario:* Consisten en la separación de los hidrocarburos y sólidos en suspensión aprovechando las diferencias entre las densidades específicas de estos elementos que conforman la mezcla o las emulsiones que puedan formar con compuestos presentes en el residual. Comúnmente este proceso ocurre en dos etapas fundamentales, decantación previa de arenas y lodos, en el desarenado y la separación de hidrocarburos y aceites en el separador de hidrocarburos (Ebbers et al., 2015).

*Tratamiento secundario:* Consiste en el tratamiento biológico como bioprecipitación, biorreducción, biosorción, fitorremediación (Stottmeister, 2003). Puede incluir procesos biológicos y químicos. El proceso secundario más habitual es un proceso biológico en el que se facilita que bacterias aerobias digieran la materia orgánica que llevan las aguas residuales

(Kadlec y Zmarthie, 2010). Dentro de estos tenemos los métodos de filtración biológica, de lodos activados, las zanjas de oxidación y las lagunas aeróbicas, anaeróbicas, facultativas y los métodos naturales de tratamiento.

*Tratamientos terciarios o avanzados:* Tienen la finalidad de eliminar la carga orgánica residual y aquellas otras sustancias contaminantes no eliminadas en los tratamientos secundarios, como por ejemplo, los nutrientes, fósforo, nitrógeno y contaminantes, grasas, aceites e hidrocarburos. Estos procesos son de naturaleza biológica, donde se han empleado diferentes tipos de tratamientos naturales, entre ellos los humedales subsuperficiales, o físico-química, como la coagulación–floculación seguido de una decantación (Lahora, 2007).

### 1.3-Humedales construidos o artificiales

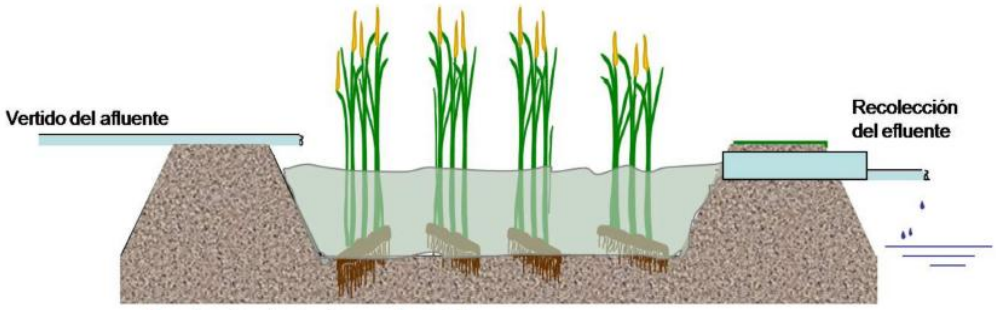
Los humedales son medios semiterrestres con un elevado grado de humedad y una profusa vegetación, que reúnen ciertas características biológicas, físicas y químicas, que les confieren un elevado potencial autodepurador. Desde los años 70, en diferentes países de Norteamérica y Europa se ha venido utilizando los humedales naturales como sistema de tratamiento de aguas residuales contaminadas con metales pesados como el arsénico, ya que estos sistemas poseen la capacidad de depurar aguas altamente contaminadas, debido a lo cual se empezaron a diseñar sistemas de tratamiento que simularan las condiciones de tales ecosistemas, lo que dio paso a la aparición de los humedales construidos artificialmente que tienen una efectividad de remoción notable para nitratos y fosfatos, y respetable para metales pesados y compuestos orgánicos con una alternativa sumamente atractiva debido a su bajo mantenimiento y costo de instalación-operación (Lahora, 2007)

En Cuba se han desarrollado diversas investigaciones sobre el empleo de humedales construidos de flujo subsuperficiales para el tratamiento de aguas residuales, tanto domésticas como industriales ( Pérez et al., 2014) . Los resultados obtenidos demostraron que estos sistemas de tratamiento son eficientes y factibles para la remoción de la mayoría de los contaminantes (Izquierdo, 2013). En la depuración de aguas contaminadas con metales pesados específicamente con Cromo Vera y Gonzólez

evaluaron la depuración de las mismas con humedales construidos de flujo subsuperficiales, utilizando plantas emergentes (*Typhadominguensis, Cyperusluzulaes, Cyperus feraz L. C., Cyperusligularis L Cyperus Alternifolius*), con altas eficiencias de remoción para el sistema experimental a escala de laboratorio (Vera y González, 2015). Los resultados de estas investigaciones arrojaron que estos sistemas son eficientes y realizables para el tratamiento de estas aguas.

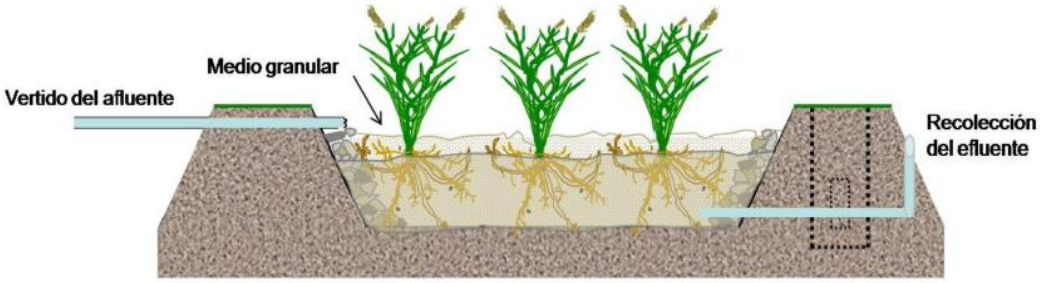
### 1.3.1-Clasificación de los humedales

En la bibliografía, generalmente, los humedales artificiales se clasifican en humedales de flujo superficial y humedales de flujo subsuperficial, teniendo en cuenta si la circulación del agua es de tipo superficial o subterránea y para estos últimos se clasifican en humedales horizontales o verticales, dependiendo de la dirección del flujo de agua a través del medio poroso. El conjunto de técnicas de los humedales de flujo superficial está fuertemente relacionado con los humedales naturales, donde el agua fluye sobre la superficie del suelo desde una entrada hasta un punto de salida. En comparación con los subsuperficiales, en estos últimos el área de contacto del agua con las bacterias y el sustrato es mucho más grande como se muestra en la Figura 1.1 (Mitchell y McNevin, 2001) y (Tang et al., 2009). Los sistemas de flujo subsuperficial son conocidos por una variedad de nombres, entre ellos: cama vegetal sumergida, método de zona de raíces, filtros de suelo plantados, cama de raíz de caña, etc. (Almeida et al., 2017).




Fuente: García, J., Corzo, A., 2008

A




Fuente: García, J., Corzo, A., 2008

B

**Figura 1.1.** Sistema de tratamiento de flujo superficial (A) y subsuperficial (B).

### *1.3.1.1-Humedales subsuperficiales*

Los humedales subsuperficiales se incluyen entre los sistemas naturales de tratamiento. En los mismos los contaminantes son removidos por una serie de procesos físicos, químicos y biológicos que ocurren en el ambiente natural, entre estos procesos se encuentran la sedimentación, la adsorción a las partículas del suelo, la asimilación por las plantas y la transformación microbiana (Pérez, 2013). Han demostrado ser altamente eficientes en la remoción de contaminantes, flexibles a fluctuaciones de la carga del contaminante y el caudal, son de bajo costo de instalación y de mantenimiento, son operables por mano de obra no especializada, amigable con el entorno y además ofrecen beneficios recreacionales y estéticos (Pant et al., 2001; Ouyang et al., 2010; Saeed y Sun, 2011).

Los humedales de flujo horizontal el agua circula horizontalmente a través del medio granular, los rizomas y raíces de las plantas. Se caracteriza por funcionar permanentemente inundados (por debajo de la superficie) con cargas alrededor de 6 g DBO/m$^2$ (Petitjean et al., 2011). Los sistemas verticales se combinan con horizontales para que los procesos de nitrificación y desnitrificación se sucedan de forma progresiva y se consiga eliminar el nitrógeno. En estos humedales la circulación es de tipo vertical y tiene lugar de manera tal que el medio granular no esté permanentemente inundado. Tienen una mayor capacidad de tratamiento que los horizontales (requieren menos superficie para tratar una determinada carga orgánica).

Están constituidos por los mismos elementos que los horizontales: estructuras de entrada del afluente, impermeabilización, medio granular, vegetación y estructuras de salida. Adicionalmente suelen incluir tuberías de aireación (Lahora, 2007).

### 1.3.4-Componentes de un humedal

Los principales componentes de un humedal que influyen sobre el proceso depurativo que se llevan en efecto en el humedal son los siguientes:

*Planta*

El mayor beneficio de las plantas es la transferencia de oxígeno a la zona de la raíz y absorción de los metales pesados biodisponibles. Su presencia física en el sistema permite la penetración a la tierra o medio de apoyo y transporta el oxígeno de manera más profunda, de lo que llegaría naturalmente a través de la sola difusión. Las porciones sumergidas de las hojas y tallos se degradan y se convierten en restos de vegetación, que sirven como sustrato para el crecimiento de la película microbiana fija que es la responsable de gran parte del tratamiento que ocurre (Stottmeister et al., 2003).

Las plantas emergentes viven en aguas poco profundas, son anfibias, arraigadas en el suelo, y cuyos tallos y hojas emergen fuera del agua, pudiendo llegar hasta alturas de dos y tres metros contribuyen al tratamiento del agua residual y escorrentía de varias maneras:

- ✓ Estabilizan el substrato y limitan la canalización del flujo.
- ✓ Dan lugar a velocidades de agua bajas y permiten que los materiales suspendidos se depositen.
- ✓ Toman el carbono, nutrientes, y elementos de traza como los metales y los incorporan a los tejidos de la planta.
- ✓ Transfieren gases entre la atmósfera y los sedimentos.
- ✓ El escape de oxígeno desde las estructuras subsuperficiales de las plantas, oxigena otros espacios dentro del sustrato.
- ✓ El tallo y los sistemas de la raíz dan lugar a sitios para la fijación de microorganismos.

- ✓ Cuando se mueren y se deterioran dan lugar a restos de vegetación.

Las plantas emergentes que frecuentemente se encuentran en la mayoría de los humedales para aguas residuales son las espadañas o eneas (*Typha sp.*), la caña o junquillo (*Phragmitescommunies*), los juncos (*Juncos sp.*), (*Scirpus sp.*), (*Carex sp.*), (*Heliconias sp) (Bañuelos et al.,2016)* y las Cyperaceas (*Cyperus Alternifolius)*. Stottmeister y colaboradores plantean que se deben elegir especies que presenten un buen desarrollo y crecimiento, principalmente especies nativas, ya que están adaptadas al clima local, los suelos, y la comunidad de plantas y animales del entorno (Stottmeister et al., 2003). Dentro de las plantas con las características anteriores hay que tener en cuenta lo planteado por Oka y colaboradores ya que para el caso de la remoción de metales pesados las plantas son selectivas a determinados elementos incluso dentro de la misma familia dependiendo de su propio metabolismo (Oka et al., 2017).

***Sustrato***

El sustrato empleado en humedales subsuperficiales, es una mezcla específica de componentes determinados por razones de conductividad hidráulica y propiedades físico-químicas. El suelo y la mezcla del sustrato se seleccionan dependiendo de la composición del agua a tratar.

Según Izquierdo y Pérez en los sistemas con flujo subsuperficial el medio puede ser suelo, arena o grava y los espacios libres del medio sirven como canales para el flujo del agua (Izquierdo, 2013; Pérez et al., 2009). Sobre la superficie del medio, crece la masa de microorganismos semejante a lo que ocurre en un filtro percolador. Para la elección del suelo es de suma importancia saber su composición, ya que los ricos en minerales de hierro y manganeso remueven un gran porciento de otros metales pesados como Cu, Pb, Ni, Co y Cr, a través de la formación de óxidos hidratados de hierro y manganeso precipitados que absorben fuertemente otros metales pesados removiéndolos del agua contaminada (Schintu et al., 2016).

El sustrato, sedimentos, y los restos de vegetación son importantes por varias razones:

- ✓ Soportan a muchos de los organismos vivientes en el humedal.

- ✓ La permeabilidad del sustrato afecta el movimiento del agua a través del humedal.
- ✓ Muchas transformaciones químicas y biológicas (sobre todo microbianas) tienen lugar dentro del sustrato.
- ✓ El sustrato proporciona almacenamiento para muchos contaminantes.
- ✓ La acumulación de restos de vegetación aumenta la cantidad de materia orgánica en el humedal. La materia orgánica da lugar al intercambio de materia, fijación de microorganismos, y es una fuente de carbono, que es la fuente de energía para algunas de las más importantes reacciones biológicas en el humedal (Moreno et al., 2007).
- ✓ En la remoción de fósforo y metales es importante la selección del sustrato, ya que la retención del contaminante depende principalmente de las propiedades químico- físicas específicas de este material, tales como pH, potencial redox, iones disueltos, contenido de calcio, amorfo y cristalino, contenido de minerales de hierro y aluminio etc. (Szkokan-Emilson et al., 2014; Zanin et al., 2017; Zhang et al., 2017; Wen et al., 2017 )

***Microorganismos***

Una característica importante de los humedales es que sus funciones son principalmente reguladas por los microorganismos y su metabolismo. Los microorganismos incluyen bacterias, levaduras, hongos y protozoarios. La biomasa microbiana consume gran parte del carbono orgánico y muchos nutrientes.

La actividad microbiana:

- ✓ Transforma un gran número de sustancias orgánicas e inorgánicas en sustancias inocuas o insolubles.
- ✓ Altera las condiciones de potencial redox del sustrato y así afecta la capacidad de proceso del humedal.
- ✓ Está involucrada en el reciclaje de nutrientes.

Algunas transformaciones microbianas son aeróbicas (es decir, requieren oxígeno libre) mientras otras son anaeróbicas (tienen lugar en ausencia de

oxígeno libre). Muchas especies bacterianas son facultativas, es decir, son capaces de funcionar bajo condiciones aeróbicas y anaeróbicas en respuesta a los cambios en las condiciones medioambientales (Zhang et al., 2011). Las poblaciones microbianas se ajustan a los cambios en el agua que les llega y se pueden extender rápidamente cuando se tiene la suficiente energía. Cuando las condiciones medioambientales no son convenientes, muchos microorganismos se inactivan y pueden permanecer inactivos durante años.

### 1.3.5-Mecanismos de remoción de metales en los humedales subsuperficiales

En los humedales construidos la remoción de los contaminantes presentes en las aguas residuales es llevado a cabo por una variedad de complejos procesos físicos, químicos y biológicos, que en la mayoría de los ocasiones ocurren simultáneamente.

Entre los mecanismos propuestos para la remoción de metales se incluyen la adsorción, sedimentación, precipitación química y toma por las plantas. Al igual que lo que se plantea para el caso del fósforo, los metales pueden liberarse durante cierto período, los cuales se han asociado a cambios en los potenciales redox dentro del sistema. Los mecanismos propuestos son:

#### *1.3.5.1-Mecanismos de remoción de metales pesados en el sustrato*

**Precipitación de metales por reducción de sulfatos:** Los microorganismos pueden inmovilizar metales tóxicos de forma eficiente a través de su precipitación o como resultado de una reducción diferenciada o por interacciones con productos del metabolismo microbiano. Bacterias, hongos y algas producen sulfuros, hidróxidos, carbonatos y sulfatos que pueden reaccionar con metales formando precipitados metálicos fuertemente insoluble.

Los microorganismos anaerobios sulfatos reductores son capaces de eliminar metales como: hierro, cobre, níquel, entre otros, a la vez disminuyen la concentración de sulfatos y se neutraliza el residuo. Ellos oxidan gran cantidad de compuestos orgánicos, reducen los sulfatos

produciendo sulfuros (Puigagut et al., 2007). La reacción medida por sulfatos reductores es como sigue:

$SO_4^{2-} + 2CH_2O \longrightarrow H^+ + HS^- + 2HCO^{3-}$

($CH_2O$ representa un compuesto orgánico simple)

La reducción de sulfatos resulta en una disminución de sulfatos y un incremento de bisulfuros y $HCO^{-3}$.

El sulfuro de hidrógeno gaseoso puede luego formarse de bisulfito y de los iones de hidrógeno presentes, en especial a valores de pH menores a 7:

$H^+ + HS^- \rightarrow H_2S$ (g)

La pérdida de $H_2S$ en la atmósfera, así como la producción de $HCO^{-3}$ representa una disminución de la acidez, elevando el pH y dándole una capacidad buffer a la solución. El $H_2S$ puede reaccionar con una variedad de metales, resultando un sulfuro metálico que precipita:

$H_2S + Me^{2+} \rightarrow MeS\downarrow + 2H^+$

($Me^{2+}$ representa un metal divalente iónico tales como $Fe^{2+}$, $Cd^{2+}$ $Zn^{2+}$ o $Ni^{2+}$).

**Transformaciones redox:** El tratamiento de residuos con cromo es un buen ejemplo del potencial de la biorremediación por microorganismos. Aunque existen muchos y diferentes estados de oxidación del cromo, los más estables son Cr (III) y Cr (VI). El Cr (VI) que es altamente soluble, tóxico y mutagénico, al reducirse al insoluble Cr (III) en agua es significantemente menos tóxico, resulta de la precipitación como hidróxidos y ofrece una estrategia prometedora de remediación (Yevdokimov et al., 2006).

La reducción de Cr (VI) es desarrollada por un gran número de microorganismos, algunas bacterias sulfato-reductoras pueden compartir propiedades fisiológicas tanto del metal como sulfato-reductoras y crecer con Cr (VI) y otros metales como aceptores de electrones. Mecanismos indirectos también promueven la reducción de Cr (VI) en sedimentos contaminados y son mediados por sulfuros y similarmente para Fe (II) (Puigagut et al., 2007).

Los microorganismos reductores de hierro (III) como la *Geobactermetallireducens*, influyen fuertemente en los ciclos

biogeoquímicos del hierro y de otros metales, así como en el destino de la materia orgánica y los nutrientes de una gran cantidad de hábitat (Puigagut et al., 2007). Debido a que muchos e importantes factores ambientales como materia orgánica y hierro (III) reducible se encuentran en cantidades suficientes en sedimentos, muchos humedales son considerados sitios de actividad microbiológica mediada por el ciclo del hierro. Una gran cantidad de bacterias anaeróbicas son capaces de conservar energía a través de la reducción de Fe (III) a Fe (II). Muchos de estos procarióticos también tienen la habilidad para crecer a través de la reducción de Mn (VI) a Mn (II). Los microorganismos reductores de hierro y manganeso pueden disolver los insolubles óxidos de Fe (III) y Mn (IV), resultando en la liberación de los solubles Fe (II) y Mn (II) así como de metales traza asociados a minerales del Fe (III) o Mn (IV). De esta manera este tipo de microorganismos pueden afectar el destino y estado de otros contaminantes metálicos, tanto por una directa reducción enzimática o de una forma indirecta (Yevdokimov et al., 2006).

Formas reducidas de hierro y manganeso (Fe (II) y Mn (II)) son oxidados por bacterias y luego precipitan, principalmente en forma de hidróxidos. La oxidación de Fe (II) es desarrollada en ambientes contaminados por metales, tales como drenaje de minas, pilas de colas, tuberías de drenaje, sedimentos, pantanos y la rizosfera de las plantas (Stottmeister et al., 2003). La reacción química envuelve la oxidación del hierro ($Fe^{2+}$) por las bacterias hierro oxidante como sigue:

$$Fe^{2+} + H^{+} + O_2 \rightarrow Fe^{3+} + H_2O$$

El hierro en forma ($Fe^{+3}$) luego reacciona con agua para formar un insoluble hidróxido de hierro que precipita:

$$Fe^{3+} + 3H_2O \rightarrow Fe\,(OH)_3\downarrow + 3H^{+}$$

La precipitación de los óxidos de hierro y manganeso, causada por la oxidación mediada microbiológicamente es quizás el proceso que domina la remoción de metales en zonas anaerobias de humedales construidos. Humedales aerobios, debido a su extensa superficie de agua y bajo flujo, promueven la oxidación metálica bacterial y la subsiguiente hidroxilación, originando la precipitación y retención de hidróxidos de Fe, Mn y Al

(Yevdokimov et al., 2006). Los óxidos hidratados de hierro y manganeso precipitados absorben fuertemente otros metales pesados como Cu, Pb, Ni, Co y Cr, removiéndolos del agua contaminada (Tietz et al., 2007; Hargreaves et al., 2017).

#### *1.3.5.2-Mecanismos de tolerancia a metales pesados en las plantas*

Los mecanismos de tolerancia que han desarrollado las plantas para resistir y sobrevivir a la exposición a metales pesados involucran estrategias de exclusión, mineralización, reducción, solubilización, quelación, redistribución y acumulación. La exclusión involucra un sistema de reflujo o liberación de metales desde el interior de la planta hasta el exterior, para evitar o minimizar la acumulación en biotecnología y biología molecular.

La mineralización reduce la biodisponibilidad de los metales, que por tanto no pueden ser absorbidos. La solubilización está relacionada con la transformación del metal insoluble a una forma soluble, es decir, su transformación de una forma no asimilable a una asimilable (Svoboda et al., 2000). La reducción implica la transformación de especies químicas altamente tóxicas a especies menos tóxicas (por ejemplo cromo VI a cromo III), las cuales pueden entonces ser asimiladas y metabolizadas por las plantas. Una vez dentro del organismo, las especies metálicas individuales experimentan una biotransformación al ser acomplejadas por un ligando existente o sintetizado. Esta estrategia, conocida como quelación, es uno de los mecanismos de destoxificación recurrentes en las plantas formando un complejo muy estable que puede ser transferido y acumulado en las vacuolas de la planta. De esta manera, el metal se encuentra “secuestrado” y no está disponible para ejercer su toxicidad (Stottmeister et al., 2003). En general, los mecanismos de tolerancia son diferentes entre las distintas especies de plantas y estarán determinados por el tipo de metal.

**Complejos organometálicos:** Entre los quelantes producidos por las plantas se encuentra los ácidos orgánicos, particularmente citrato, oxalato y malato; algunos aminoácidos, principalmente histidina y metalotioneínas.

**Metalotioneínas:** Son polipéptidos ricos en cisteína, codificados genéticamente. Estas proteínas contienen largas fracciones de residuos de

cisteína y muestran alto contenido metálico con iones coordinados en grupos metal-tiolato (Alahabadi et al., 2017).

El mecanismo de destoxificación de metales es más complejo que una simple quelación. El ión puede activar la enzima fitoquelatinasintetasa, iniciando la formación de las fitoquelatinas, las cuales lo acomplejarán y entonces presumiblemente será transportado a las vacuolas, donde puede formar una agregación más compleja con sulfuros o ácidos orgánicos. Si las plantas no fabrican las fitoquelatinas, los metales inhibirán su crecimiento y morirían (Bastviken et al., 2009).

### 1.3.6-Modelos cinéticos

Los humedales construidos son sistemas más complejos que los procesos de tratamiento convencionales, debido al alto número de procesos y mecanismos implicados en la eliminación de los contaminantes, los cuales dependen de diversos factores ambientales y operacionales. De ahí la importancia de los estudios experimentales a pequeña escala para obtener los modelos cinéticos de remoción de los contaminantes, y por ende el dimensionamiento del sistema de tratamiento.

El modelo de primer orden representa la ecuación de diseño básica para los humedales construidos (ecuación 1.1), empleada ampliamente (Reed y Crites, 1995; Mamo et al., 2005; Vymazal, 2007).

$$\frac{Ce}{Co} = e^{-kv*t} \qquad (1.1)$$

Siendo:

Ce: Concentración del contaminante efluente, mg/L.

Co: Concentración del contaminante afluente, mg/L.

kv: Constante volumétrica de velocidad de reacción, $d^{-1}$

t: Tiempo de retención hidráulica, d.

El modelo ofrece un perfil exponencial de la concentración de las aguas residuales afluentes y efluentes. Este enfoque ha sido utilizado para el diseño de humedales y para predecir la eliminación de todos los contaminantes de interés en los mismos: materia orgánica, sólidos suspendidos, nitrógeno y fósforo. Sus deficiencias son reconocidas,

principalmente para la eliminación de fósforo (Kadlec y Zmarthie, 2010) pero sigue siendo vista como la ecuación más apropiada de diseño que describe la eliminación de contaminantes en estos sistemas.

En el modelo de primer orden, no hay límite teórico en la tasa de eliminación. Mientras la carga aumenta la tasa de eliminación también aumentará. En la práctica, no sucede así, debido a esto Mitchell y McNevin plantean que con el incremento de la concentración en el afluente, la tasa de degradación eventualmente dejará de ser de primer orden y se convertirá en orden cero (ecuación 1.2), es decir la cinética será independiente de la concentración (Mitchell y McNevin, 2001).

$$Ce - Co = -kv * t \qquad (1.2)$$

La transición de la cinética de degradación biológica de primer orden a la de cero orden, debido al aumento de la carga, puede ser representada por una cinética tipo Monod (ecuación 1.3), es decir comportándose como primer orden para bajas concentraciones y orden cero para concentraciones relativamente altas (Mitchell y McNevin, 2001). Este modelo cinético proporciona una estrecha relación entre la disponibilidad del sustrato y el crecimiento de la biomasa, es muy apropiado para procesos biológicos de remoción (Stottmeister et al., 2003).

$$K * \ln\frac{Co}{Ce} + (Co - Ce) = -kv * t \qquad (1.3)$$

Siendo:

kv: Constante de velocidad de reacción, mg $l^{-1}d^{-1}$.

K: Constante de saturación, mg/l.

En la actualidad existe gran experiencia en el diseño de humedales horizontales, estableciéndose ecuaciones básicas de diseños para los mismos a partir de los modelos cinéticos obtenidos en diferentes regiones y sustituyendo el tiempo de retención hidráulico (ecuación 1.4) en la ecuación cinética correspondiente, se puede obtener el área necesaria para la remoción de cada contaminante, escogiéndose finalmente la mayor área requerida para el diseño del humedal:

$$t = \frac{A * y * \eta}{Q} \qquad (1.4)$$

Siendo:

A: Área superficial, $m^2$.

Q: Caudal, $m^3/d$.

## 1.4-Determinación de Ni y Cr

### 1.4.1-Digestión de las muestras

Los metales en sistemas biológicos como las plantas y el suelo, generalmente están presentes en forma ligada a un compuesto orgánico, el que está en "exceso" en forma apreciable. La eliminación de materia orgánica y mineralización de estos elementos forma parte de una etapa crucial que precede a las de separación y determinación analítica. Los constituyentes orgánicos por lo general interfieren tanto en la separación como en la determinación (Maine et al., 2007).

Los metales pueden ser eluidos desde la matriz orgánica hacia una solución acuosa o separados por volatilización de la materia orgánica. Esta última etapa, usualmente denominada calcinación (ashing) comprende la eliminación de la materia orgánica por conversión a una forma gaseosa. El residuo inorgánico contiene los elementos de interés (Baraud y Leleyter, 2012). Los métodos más apropiados para transformar muestras biológicas se basan especialmente en la destrucción de la materia orgánica la que puede ser mediante procedimientos por vía seca o húmeda (García y Reyes, 2009).

#### *1.4.1.1-Procedimientos por vía seca*

*a) Elevadas temperaturas*

Se realiza en un horno mufla y en varias etapas. La primera consiste en un secado a temperaturas que oscilan entre 105 y 150 ºC, luego una precalcinación entre 200 y 400 ºC para finalmente proceder al calcinado principal entre 450 y 550 ºC.

Si no se desean determinar elementos volátiles, el calcinado principal se puede realizar a temperaturas próximas a los 800 ºC. Se debe poner especial cuidado en no elevar la temperatura en exceso, puesto que se pueden formar compuestos refractarios difíciles de disolver posteriormente por los métodos tradicionales. Las cenizas resultantes se pueden disolver en

ácidos o mezclas de ellos. Se emplean habitualmente HCl, $HNO_3$ y $H_2SO_4$. Cuando la muestra tiene cantidades importantes de fosfatos, es recomendable el empleo final de agua regia como disolvente (Fernández-Ondoño et al., 2017).

*b)* Bajas temperaturas

Las temperaturas empleadas son de 100 a 200 ºC y se calcinan entre 1 y 5 g de muestra en una atmósfera de oxígeno generada por un campo magnético de alta frecuencia. Es útil para aquellos casos en que se desea evitar pérdidas de elementos volátiles como Pb y Cd.

***1.4.1.2-Procedimientos por vía húmeda***

Estos procedimientos incluyen la descomposición de muestras empleando ácidos oxidantes, solos o en mezclas, en sistemas abiertos a presión atmosférica o en sistemas cerrados bajo presión. Esto último se hace con el fin de emplear temperaturas mayores que aquellas correspondientes al punto de ebullición de los reactivos y originar presiones elevadas que aceleran el proceso.

Se suelen emplear además, agentes oxidantes auxiliares, tal es el caso del peróxido de hidrógeno, los que destruyen la materia orgánica transformando la muestra en un residuo compuesto por sales que son fácilmente solubles en ácidos diluidos (Hamdoun et al., 2015).

*a) Sistemas Abiertos*

En estos sistemas se emplean los vasos comunes tipo erlenmeyer con o sin condensadores de reflujo. Cuando la muestra posea elementos volátiles a determinar, es conveniente el empleo de frascos cuello largo a fin de evitar pérdidas. El $H_2O_2$ es un reactivo de fuerte poder oxidante que se emplea comúnmente en combinación con el $H_2SO_4$.

*b) Sistemas Cerrados*

En los sistemas cerrados, los ácidos utilizados se pueden calentar a temperaturas mayores incrementando con ello el poder oxidante. Sin embargo, es limitado por la cantidad de muestra que puede utilizarse, puesto que hay una liberación importante de gases con un incremento de la

presión. La cantidad de muestra que se emplea habitualmente es 500 mg (Akinyele y Shokunbi, 2015).

En la extracción de metales existen dos métodos: análisis parcial y total.

Análisis parcial: son aquellos que utilizan para la disolución y extracción de los elementos HCl, $HNO_3$, $HClO_4$, de manera que solamente los metales pesados retenidos en las fracciones de suelo más lábiles como la materia orgánica o carbonatos serán liberados pasando a la solución extractante.

Análisis total: emplean el HF combinado con alguno de los ácidos anteriores, incluso con $H_2O_2$, consiguiendo la disolución total de la muestra de suelo, puesto que permite la liberación de los metales pesados adsorbidos fuertemente en la red cristalina de los minerales.

### 1.4.3-Determinación

Las técnicas de análisis físico-químico convencional permiten conocer la concentración en que se encuentran determinados elementos traza en suelos, plantas, sedimentos o rocas; ejemplos son la Espectrometría de Emisión Atómica con Plasma Acoplado por Inducción (ICP-AES), absorción de llama y absorción atómica electrotérmica con cámara de grafito. El método de emisión se basa en hacer que los elementos emitan su onda específica de luz, que puede ser medida, el cual es usado para detectar las trazas de metales en diferentes matrices (Van Staden y Taljaard, 2004).

Esta técnica tiene varias ventajas si se le compara con los demás métodos. Entre las ventajas está su baja susceptibilidad a las interferencias químicas, la cual es una consecuencia directa de sus temperaturas superiores. En segundo lugar están los buenos espectros, que resultan para la mayoría de los elementos con un solo grupo de condiciones de excitación. Otra ventaja de las fuentes de plasma más energéticas es que facilitan la determinación de concentraciones bajas de elementos que tienden a formar compuestos refractarios, como los óxidos de boro, fósforo, tungsteno, uranio, circonio y niobio. Además, las fuentes de plasma permiten determinar no metales como cloro, bromo, yodo y azufre. Por último, los intervalos de concentración de los métodos de emisión de plasma son de varios órdenes de magnitud, en contraste con el intervalo de dos o tres décimas de los métodos de absorción (López Guerrero et al., 2017)

Esta técnica a pesar de tener muy buenos resultados, a menudo los espectros son muy complejos. Por tanto requiere mayor resolución y se hace más costoso su desarrollo por su posterior mantenimiento, por tal causa no todos los laboratorios cuentan con el presupuesto para emplearla.

La Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA) es otra de las técnicas empleadas para la determinación de metales pesados en diferentes tipos de muestras, ya sean de naturaleza geológica, biológica, metalúrgica, vítrea, ambiental, entre otras. También es aprovechada en el análisis de aguas naturales y residuales, suelos, cementos, sedimentos marinos, así como en las industrias alimenticias y petroquímicas. Por tanto, siendo ampliamente utilizada (Reclo et al., 2017) . El método se destaca por su alta sensibilidad y selectividad, puesto que la determinación del metal de interés se puede llevar a cabo en presencia de otros elementos, sin tener que separar estos de la muestra analizada; esto trae consigo la gran ventaja de simplificar el proceso, ahorrar tiempo y evitar errores (Firouzabadi et al., 2017).

La espectroscopía de absorción atómica (EAA), tiene como fundamento la absorción de radiación de una longitud de onda determinada. Esta radiación es absorbida selectivamente por átomos que tengan niveles energéticos cuya diferencia en energía corresponda en valor a la energía de los fotones incidentes. La cantidad de fotones absorbidos, está determinada por la ley de Beer, que relaciona ésta pérdida de poder radiante, con la concentración de la especie absorbente y con el espesor de la llama que contiene los átomos absorbedores.

Se conocen escasas interferencias de matriz, las cuales pueden ser resueltas por la preparación de los patrones precisos para llevar a cabo la calibración del equipo, así como interferencias espectrales, que pueden ser descartadas ya que la detección y cuantificación de las especies atómicas están asentadas en las líneas de absorción características de cada elemento (López Lozano et al., 2015).

### 1.5-Extracciones químicas

En estudios ambientales, habitualmente se utilizan los llamados procesos de extracción simple o secuencial que permiten discernir entre las diferentes formas en que se encuentra el metal en la matriz de la muestra analizada.

En dichas extracciones es importante conocer la fracción de metal biodisponible, asimilable para las plantas, por ejemplo:

Para obtener esta información normalmente se utilizan las extracciones simples que consisten en la extracción de la fracción de metal de interés mediante la utilización de un único agente extractante selectivo.

**Extracciones químicas simples**

Las extracciones químicas simples, denominadas comúnmente ataques selectivos, consisten en la aplicación de una solución reactiva a una muestra sólida y cuyo objetivo fundamental es la extracción de elementos traza (principalmente metales) asociados a la fase específica del sólido que no es resistente a dicho ataque. Para verificar si un elemento o compuesto está en una fase soluble en agua, que es cuando con mayor facilidad podrá transferirse a una planta u organismo vivo, la primera valoración de la movilidad se debe hacer determinando qué fracción del mismo se encuentra soluble en agua (extracción con agua) (Fuentes et al., 2004).

Otra medida de la posible transferencia de metales (especialmente de cationes divalentes) a una planta viene dada por la extracción que se obtiene tratando el suelo con EDTA (0,05 M a pH 7,0) (Baraud y Leleyter, 2012). Existe un cierto acuerdo de que esta medida se aproxima bastante a la cantidad que en general las plantas pueden absorber de un suelo en condiciones normales (Gu et al., 2016).

Cuando lo que desea es determinar, con la mayor precisión posible, la distribución de los elementos trazas existentes en una muestra sólida entre fracciones de distinta naturaleza físico-química, es necesaria la aplicación de extracciones secuenciales, también conocida como especiación.

**Extracciones químicas secuenciales**

Para el estudio de la remoción de metales pesados en los tratamientos naturales de depuración se hace necesario determinar las diversas formas químicas en las que se encuentran, así como el tipo de sustrato al que se hallan asociados los cationes metálicos en los sedimentos. La técnica de extracciones secuenciales nos brinda información del comportamiento de los metales pesados en el sistema, además de su movilidad. Dicho proceder es

ampliamente utilizado en estudios medioambientales aunque su capacidad de separación y diferenciación de las fracciones geoquímicas no es perfecto pero brinda gran información para entender el comportamiento químico y la biodisponibilidad de los metales a estudiar (Hamdoun et al., 2015).

Las extracciones químicas secuenciales constituyen una metodología operativa consistente en la exposición de una muestra sólida frente a una serie de soluciones reactivas de características físico-químicas distintas. En campos de investigación relacionados con las ciencias geológicas, las muestras sólidas que se someten a este tipo de procedimientos son principalmente fragmentos de sedimentos, rocas y suelos. La finalidad que se persigue al aplicar una metodología de extracción química secuencial es determinar, con la mayor precisión posible, la distribución de los elementos traza existentes en una muestra sólida entre fracciones de distinta naturaleza fisicoquímica. A esta distribución se le ha denominado "especiación", y se ha comprobado que el reparto elemental determinado mediante la aplicación de una metodología de este tipo tiene una relación directa con el comportamiento geoquímico y la biodisponibilidad de los elementos químicos en condiciones naturales.

Un trabajo de importancia capital en el campo de las extracciones químicas secuenciales lo constituye el realizado por Tessier y colaboradores en el que se presenta y se describe de manera detallada un protocolo de aplicación secuencial de reactivos según cinco etapas, que permitiría obtener información sobre el origen y el modo de presentarse de los metales traza en los sedimentos, así como acerca de su disponibilidad biológica y fisicoquímica, su movilización y su transporte (Tessier et al., 1982).

Este método considerablemente usado en suelos españoles, generalmente con buenos resultados, tiene la desventaja de su lentitud por lo que se han ensayado otras dos metodologías; como la de Sposito empleada en la determinación de metales pesados en suelos tratados con lodos residuales bajo clima semiárido (Sposito, 1989) y la de Favas (Favas et al., 2011); siendo esta última una modificación del método propuesto por Mann y Ritchie para la extracción secuencial de Cd ligado a diferentes fases de suelos australianos desarrollados sobre variadas climatologías, todos ellos

caracterizados por ser ácidos, arenosos y carentes de carbonatos (Mann y Ritchie, 1995). La ventaja que muestran estos dos fraccionamientos es su mayor rapidez de ejecución (Vilar et al., 2003).

En las metodologías propuestas por Tessier (1982), Sposito (1989) y Mann y Ritchie (1995), no se ha encontrado un criterio uniforme a la hora de considerar las formas de asociación de los metales en los suelos. A pesar de ello, es posible establecer ciertas correspondencias entre los métodos empleados. Ellos utilizan, según la fracción a determinar, diferentes soluciones extractantes cuya capacidad varía en función de sus características, fuerza iónica o relación suelo-extractante en que se utilicen. Los resultados más homogéneos, para los tres métodos ensayados, se dan en las primeras fracciones; a medida que se avanza en el proceso secuencial, los resultados comienzan a ser más variables por la pluralidad de las diferentes soluciones empleadas.

Las diferencias más significativas en las distintas determinaciones, se producen cuando los metales se encuentran en concentraciones elevadas, caso del hierro. Cuando los elementos se dan en concentraciones menores, de fondo geoquímico, como es el caso del cinc o el plomo, las diferencias son sensiblemente menores, siendo válido cualquier método para la determinación de la asociación de un elemento a distintas fases del suelo.

Dado que los esquemas de extracciones secuenciales tienen prácticamente el mismo procedimiento y que sólo varían los diversos extractantes y su forma de aplicación la Community Bureau of Reference (BCR) de la Comisión de las Comunidades Europeas en 1992 realizó un estudio para la armonización de las diferentes técnicas empleadas bajo el nombre “Especiación de metales pesados en suelos y sedimentos” (Mossop y Davidson, 2003). Este método de extracción química sucesiva comprende cuatro fracciones de extracción: metal en forma de iones intercambiables y carbonatos (F1), metal asociado a los óxidos de hierro y manganeso (F2), metal ligado a la materia orgánica (F3) y la fase residual (F4).

Se ha comprobado que la selectividad de los extractantes para un metal concreto asociado a una fase geoquímica determinada es muchas veces incompleta. Este es el caso de muestras de suelo con grandes cantidades

de oxihidróxidos de hierro, por lo que se hace necesario repetir varias veces la extracción con cloruro de hidroxilamina, y modificar el pH para asegurar que todos los metales asociados a estas fases se liberen (Gómez Ariza et al., 2000; Galán et al., 2003), además hay que tener en cuenta la influencia de condiciones críticas operacionales como temperatura, tiempo de lixiviado, concentración del reactivo y tamaño de la partícula del sólido. A pesar de tener estas desventajas el extracto secuencial, todavía se usa ampliamente como método para evaluar la disponibilidad y movilidad de metales en muestras de sedimentos, lodos, suelos y residuos. Los volúmenes de metal obtenido en cada fragmento son posteriormente determinados por una técnica analítica conveniente.

Teniendo en cuenta las diferentes fracciones de metal, la cantidad de metal extraído en la primera etapa será una buena orientación para predecir la posible movilidad del metal en el residuo estudiado, y por tanto su posible peligrosidad, mientras que la cantidad de metal extraída en la etapa residual nos indicará la proporción de metal que en principio no va a afectar al medio.

Para evaluar el grado de contaminación y el riesgo ambiental que pueden provocar los residuos de interés, normalmente se calcula el denominado "factor de contaminación" ($C_f$) que se define como el coeficiente entre la concentración de metal extraíble correspondiente a la suma de la masa de metal extraído en las etapas uno a tres (Etapa1+Etapa2+Etapa3) y la concentración de metal en la fracción residual.

$$C_f = \frac{Etapa\ 1\ +\ Etapa\ 2\ +\ Etapa\ 3}{concentración\ de\ metal\ en\ la\ fracción\ residual}$$

Así pues, teniendo en cuenta esta expresión, a medida que el valor de $C_f$ sea menor, mayor será la retención del metal en el residuo y por tanto menor será su movilidad y posible introducción en el medio.

Un caso estudiado con este procedimiento fue el de los sedimentos de los ríos Tinto y Odiel afectados por los drenajes ácidos de minas y escombreras de la Faja Pirítica Ibérica (Galán et al., 2003)

# CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS

El capítulo en cuestión describe la fase experimental de la investigación desarrollada mostrando así las condiciones en las que se ejecutaron los experimentos y los materiales, métodos, instrumentos y equipos que se manejaron. Se utilizaron dos sistemas experimentales: el primero con un año de exposición a disoluciones de níquel y cromo e incluido en este un período de seis meses de reposo, el segundo sometido solamente a seis meses de exposición a dichos metales.

Al sistema experimental I (Figura 2.1) se le realizó el análisis de los metales en la planta y el suelo antes, a los seis meses y al año de su puesta en funcionamiento. Las extracciones simples de los metales en el suelo se efectuaron a los seis meses y al año, las secuenciales solamente se realizaron al año. En el sistema experimental II (Figura 2.2) se analizó el contenido de níquel y cromo en la planta y el suelo antes y a los seis meses del inicio del experimento, incluyendo las extracciones simples y secuenciales.

Las dimensiones de los humedales experimentales de flujo subsuperficial horizontal fueron 0,45 m de largo, 0,33 de ancho y 0,2 m de profundidad, logrando así una mayor oxigenación en los sistemas menos profundos. Los humedales poseen una capa de suelo ferralítico rojo de 0.15 m de espesor y la capa restante de grava 5-10 mm de diámetro (procedente del molino de piedra El Purio en Encrucijada).

**Figura 2.1.** Sistema de tratamiento experimental (I).

**Figura 2.2.** Sistema de tratamiento experimental (II).

### *2.1-Selección y caracterización de los componentes del humedal*

#### 2.1.1-Plantas.

Las plantas emergentes seleccionadas fueron las *Cyperus Alternifolius, Heliconia Rostrata y Heliconia Wagneriana*. La *Cyperus* fue escogida por ser estudiada en nuestro país anteriormente mostrando altos porcientos de remoción a los contaminantes expuestos como se muestran en el acápite 1.3.4., las *Heliconias* fueron tomadas por brindar buenos resultados en la remoción de metales fuera de nuestro país (acápite 1.3.4).

**Figura 2.3.** Planta *Cyperus Alternifolius.*

***Planta emergente***: *Cyperus Alternifolius* (Figura 2.3), evaluada en el sistema experimental (I), es una especie perenne, herbácea y se desarrolla bien bajo condiciones de estrés siendo resistente a los excesos de contaminantes. Son plantas que pueden llegar a monopolizar ambientes determinados y logran alcanzar la madurez al cabo del año. Las plantas de dicha especie fueron tomadas en zonas aledañas a la Universidad Central “Marta Abreu” de las Villas, se escogieron plantas jóvenes con raíces y rizomas en buen estado, realizándose la poda antes de la siembra.

**Figura 2.4.** Planta Heliconia Rostrata Ruiz & Pav. (sp1).

**Figura 2.5.** Planta *Heliconia Wagneriana Petersen. (sp2).*

**Planta emergente:** *Heliconia Rostrata (sp1) y Heliconia Wagneriana Petersen. (sp2)*, sembradas en el sistema experimental II (Figura 2.4 y 2.5), son especies perennes de raíz rizomatosa que puede alcanzar entre 1,5 a 3 m de altura. Se desarrollan en lugares húmedos con clima tropical, estas dos especies fueron extraídas del Jardín Botánico de la Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas. Para la siembra se procedió de la misma forma que con el *Cyperus Alterniufolius*, solo que fueron sembradas las dos especies en el mismo sistema formando dos filas desde la entrada hasta la salida.

Para el análisis de todas las especies se realizó un lavado con agua destilada y luego con agua desionizada, con el objetivo de eliminar la mayor parte de las partículas de polvo y todos los restos de suelo que se encontraban adheridos a las raíces. Se separaron en tres clases: hojas, tallos y raíces (y rizomas); se trituraron finamente y se mezclaron para lograr la homogenización en cada una de las clases. Se secaron en estufa a 60 $^{o}$C hasta mantener peso constante, para posteriormente proceder a la preparación, a fin de realizar los ensayos subsecuentes

### 2.1.1.2-Digestión de la planta para la determinación de los metales

Se tuvo en cuenta la digestión por vía seca por las condiciones existente en el laboratorio según lo expuesto en el acápite 1.1.4.1. Se toman 3,0000 g de cada clase (hoja, tallo y raíz) previamente secadas a 60 °C, se colocan en crisoles y se sitúan en la mufla. Primeramente se llevan a 200 °C por 30 min y luego se calienta hasta 550 °C durante 6 horas. Posteriormente se dejan enfriar hasta temperatura ambiente y se le añaden 20 mL de disolución de HCl 1:1.

Se colocan en plancha de calentamiento durante 30 min tapando los crisoles con vidrio reloj. Luego se deja enfriar a temperatura ambiente y se filtra con

papeles de filtro resistentes a ácidos y se trasvasa a matraces de 50 mL. Se enrasa con agua desmineralizada.

Tanto la digestión de las plantas como la del suelo se realizan por triplicado para realizar el análisis estadístico correspondiente.

**2.1.1.3-Determinación de níquel (II) y cromo total utilizando Espectrometría de Absorción Atómica**

Para realizar la determinación de metales cromo total y níquel(II) por Espectrofotometría de Absorción Atómica se siguió el procedimiento descrito en (APHA et al., 2005).

- *Materiales y equipamiento*

✓ Disolución de níquel de 1000 mg/L: Pese 1,0000g de Níquel Metálico y disuelva con 50mL de $HNO_3$ 5 mol/L, trasvase a matraz aforado de 1 L y diluya hasta la marca con agua desmineralizada.

✓ Disolución de cromo de 1000 mg/L: Pese 1,0000 g de Cr metálico y disuelva con 50 mL de HCl concentrado y 2 mL de $HNO_3$ concentrado, trasvase a matraz aforado de 1 L y diluya hasta la marca con agua desmineralizada.

✓ Disolución de ácido nítrico 5 mol/L: Se miden 170 mL aproximadamente de $HNO_3$ al 65 % en una probeta de 250 mL respectivamente, se transfiere en un matraz de 250 mL y en cada caso se completa el volumen con agua desionizada hasta el aforo con lo que se obtiene una disolución de ácido nítrico de concentración igual a 5 mol/L.

✓ Disolución de ácido clorhídrico (1:1): Se miden 50 mL de HCl 37 % y se transfiere a un matraz de 100 mL y se completa el volumen con agua desionizada hasta el aforo.

✓ Ácido nítrico ($HNO_3$) concentrado p.a., REACHIM 65 % w.

✓ Ácido clorhídrico (HCl) concentrado p.a., MERCK 37 % w.

✓ Peróxido de Hidrógeno MERCK 30 % w.

✓ Agua desionizada (Conductividad ≤ 1 µS/cm).

✓ Balanza analítica digital Denver Instrument, modelo SI- 234, Alemania.

- ✓ Estufa WTB Binder, modelo 1511530000203, Alemania.
- ✓ Desecadoras de 14,0; 19,5 y 25,0 cm.
- ✓ Extractor de gases Binder, Alemania.
- ✓ Horno mufla automática (0-1200 °C) MLW, modelo LM 212.11, Alemania.
- ✓ Plancha de calentamiento (arena) Mermemt, modelo P450, Alemania.
- ✓ Probetas graduadas de 5 y 10 mL.
- ✓ Matraces aforados de 50, 100, 250, 500 y 1000 mL.
- ✓ Crisoles de porcelana.
- ✓ Pipetas aforadas de 1, 2, 5, 10, 15, 20 y 25 mL, clase A.
- ✓ Embudos de diámetro 4,5; 5,5 y 7,5 cm.
- ✓ Filtro de papel Whatman 40, diam. 125 mm o equivalente.
- ✓ Vasos de precipitado de 250 mL.
- ✓ Espectrofotómetro de Absorción Atómica modelo PG-990 firma PG-Instruments.

*Preparación de la curva de calibración instrumental para la determinación de níquel II y cromo total*

La curva de calibración instrumental para la determinación de níquel (II) y cromo total se realiza con los estándares de 0,1000; 0,2000; 0,4000; 0,8000; 1,000; 5,0000; 8,0000; 10,0000 y 12,0000 mg/L, preparados a partir de la disolución patrón de níquel II y cromo de concentración 1000 mg/L respectivamente con agua desionizada en matraces aforados de 100 mL.

*Instrumento de medición. Características generales*

La determinación de níquel II y cromo total en muestras residuales se realiza con un Espectrofotómetro de Absorción Atómica. El instrumento utilizado PG-990, permite realizar el análisis de absorción atómica por el método de llama o de horno de grafito en dependencia de la configuración seleccionada. En la (Figura 2.6) se muestra el equipo utilizado.

Incorpora dos funciones de corrección de fondo: el método de $D_2$ (por lámpara de Deuterio) y el método de SR (por auto-inversión), lo cual lo dota de una capacidad de corrección de fondo fuerte y buena flexibilidad o

adaptabilidad, que facilita la selección del método apropiado para la medición de la muestra.

**Figura 2.6.** Espectrofotómetro de Absorción Atómica modelo PG-990 de la firma PG-Instruments.

### *2.2.1-Condiciones experimentales*

Las condiciones de operación son las siguientes: calentamiento de 30 minutos, corriente de las lámparas (Cr y Ni) de 5 mA, paso de banda de 0,4 y 0,2 nm respectivamente, altura del quemador 6 mm (ángulo de inclinación de 45°), tipo de llama oxidante aire/acetileno, flujo de aire igual a 6 L/min y de acetileno igual a 1,2 L/min, precisión 3 mediciones y tiempo de integración 3 segundos.

Este procedimiento se emplea para la determinación de níquel y cromo tanto en la planta, el suelo como en el agua, variando solamente las condiciones para la extracción de los metales. En cada acápite se refleja el procedimiento para las extracciones y digestiones en cada componente.

### 2.1.2.-Suelo

Según el Laboratorio Provincial de Suelos en la localidad de Mata, municipio de Cifuentes de la provincia Villa Clara existe un suelo que presenta un alto contenido en minerales. El muestreo del suelo se realizó en dicho sitio, ya que el suelo utilizado en el humedal experimental procedió de esta zona por las características anteriores. Se definió una red de muestreo de 80 x 40 m, marcando puntos de muestreo en razón de 20 x 20 m, para un área total de 3 200 $m^2$. El muestreo se efectuó en el mes de febrero y hasta 20 cm de profundidad. Posteriormente la muestra fue llevada al laboratorio, secada a

temperatura ambiente y finalmente, se procedió a prepararla en función de los ensayos a efectuar. La muestra que se analiza es compuesta, representativa de todos los puntos de la red de muestreo.

El muestreo del suelo ferralítico rojo en el humedal subsuperficial se realizó marcando puntos a razón de 0.10 x 0.10 m en el mes de mayo a 0,01; 0,12 y 0,18 m de profundidad, posteriormente se manipuló de la misma forma que con el suelo anterior para prepararla en función de los ensayos correspondientes. La muestra es compuesta y representativa de todos los puntos de la red de muestreo.

#### *2.1.2.1-Parámetros físicos*

*pH acuoso y potásico*

La determinación del pH da una medida numérica de la acidez, o de la actividad del ion hidrógeno en el residuo. La variación de una unidad en el valor representa la intensidad de la acidez y no el hidrógeno total intercambiable.

- *Materiales y Equipamiento*

✓ Disolución de cloruro de potasio 1 mol/L

✓ Estufa WTB Binder, modelo 1511530000203, Alemania.

✓ Desecadoras de 14,0; 19,5 y 25,0 cm.

✓ Balanza analítica digital Denver Instrument, modelo SI- 234, Alemania.

✓ pH metro JENWAY LTD modelo 3020, Inglaterra.

✓ Probeta graduada de 50 mL.

✓ Beakers de 50 mL.

✓ Matraz aforado de 250 mL.

- *Procedimiento para pH potásico*

Se pesan 10 gramos de residuo seco correspondiente a la muestra y se adicionan 25 mL de cloruro de potasio 1 mol/L, esperar 10 minutos y se mide el pH a temperatura ambiente.

- *Procedimiento para pH acuoso*

Se pesan 10 gramos de residuo seco correspondiente a la muestra y se adicionan 50 mL de agua, se deja en equilibrio por 16 horas, se agita al comienzo con una varilla de agitación y se mide el pH a temperatura ambiente.

*Conductividad eléctrica*

La determinación de la conductividad eléctrica se utiliza normalmente para indicar la concentración total de componentes ionizados en las soluciones.

- *Materiales y Equipamiento*

✓ Agua destilada (Conductividad ≤ 8 µS/cm).
✓ Estufa WTB Binder, modelo 1511530000203, Alemania.
✓ Desecadoras de 14,0; 19,5 y 25,0 cm.
✓ Balanza analítica digital Denver Instrument, modelo SI- 234, Alemania.
✓ Saranda IKA- WERKE modelo KS- 501 D, España.
✓ Conductímetro WTW, modelo INOLAB Multi 720, Alemania.
✓ Embudos de diámetro 4,5; 5,5 y 7,5 cm.
✓ Erlenmeyer de 250 mL.
✓ Probeta graduada de 50 mL.
✓ Beakers de 50 mL.
✓ Papel de filtro Whatman.

- *Procedimiento*

Se pesan 10 gramos de residuo seco correspondiente a la muestra y se adicionan 50 mL de agua destilada, se agita por 60 minutos, se filtra y posteriormente se mide la conductividad.

*Potencial redox*

El potencial redox permite conocer las condiciones de oxidación-reducción en el medio. Cuando presenta un valor positivo y de alta magnitud es indicativo de un ambiente que favorece las reacciones de oxidación y, un valor negativo y de baja magnitud es indicativo de un ambiente altamente reductor.

- *Materiales y Equipamiento*

- ✓ Disolución Zobell
- ✓ pH metro JENWAY LTD modelo 3020, Inglaterra.
- ✓ Electrodo redox

*Procedimiento para potencial redox*

Se coloca el electrodo acoplado al pH metro en el lecho del humedal, se espera a la estabilización de la lectura y se corrige con la disolución Zobell.

**2.1.2.2-Digestión preliminar**

Se toma 1,0000 g de suelo previamente secado a 60°C, se coloca en un tubo Kjeldahl. Se le adicionan 10 mL de agua regia, se sitúa en el bloque de digestión, realizando la predigestión en frío por 2 horas tapado con vidrio reloj y bajo campana de extracción. Luego se le conecta el tubo de reflujo y se lleva a 150 ºC durante 1 hora.

Se deja enfriar progresivamente a la temperatura ambiente, se lava la columna de enfriamiento, con un máximo de 30 mL de agua y es recuperada el agua de enjuague en el recipiente de digestión.

Se filtra el extracto con un filtro resistente a los ácidos y se lleva a un matraz aforado de 100 ml (el filtrado debe ser claro). El recipiente de digestión y el residuo en el filtro es enjuagado varias veces con pequeñas cantidades (varios mL) de ácido nítrico caliente (50 °C) de concentración 2 mol/L. Por último se deja enfriar y diluir a 100 ml con la solución de ácido nítrico 2 mol/L.

***2.1.2.3-Extracciones simples.***

*Extracción de níquel (II)y Cromo total con agua desionizada*

Para la extracción de los metales con agua desionizada se seleccionó una muestra compuesta representativa del humedal analizado.

- *Materiales y Equipamiento*

- ✓ Disolución de $HNO_3$ 1 mol/L: Se miden 20 mL $HNO_3$ 5 mol/L en una probeta de 50 mL, se transfiere a un matraz de 100 mL y se completa el volumen con agua desionizada hasta el aforo con lo que se obtiene una disolución de ácido nítrico de concentración igual a 1 mol/L.
- ✓ Agua desionizada (Conductividad ≤ 1 µS/cm).

- ✓ Balanza analítica digital Denver Instrument, modelo SI- 234, Alemania.
- ✓ Saranda IKA- WERKE modelo KS- 501 D, España.
- ✓ Espectrofotómetro de Absorción Atómica, firma PG-Instruments, modelo PG-990.
- ✓ Erlenmeyer de 250 mL.
- ✓ Filtros de fibra de vidrio de 0,6-0,8µm.
- ✓ Probetas graduadas de 10 y 100 mL.
- ✓ Beakers de 50 mL.

- *Procedimiento*

Se pesa 1,0000 g de residuo correspondiente a la muestra y se coloca en un erlenmeyer para luego adicionar en razón 1:20 (S/L) agua desionizada y se pone en la saranda por 18 horas.

Se filtra la muestra con filtros de fibra de vidrio de 0,6-0,8µm, pero antes se tiene que enjuagar el filtro con $HNO_3$ (1 mol/L) y después enjuagarlo 3 veces con abundante agua destilada (1000 mL mínimo).

El líquido obtenido después de filtrada la muestra se trasvasa a matraces de 50 mL y se completa hasta el aforo con agua desionizada, se preserva y se le determina el contenido de níquel (II) y Cromo total.

*Extracción de níquel (II) y cromo total con EDTA*

Para la extracción de los metales con EDTA se seleccionó una muestra compuesta representativa del humedal analizado.

- *Materiales y Equipamiento*

- ✓ Disolución de EDTA 0,05 mol/L a pH 7: Se pesan 4,653 g de EDTA y se trasvasan a un matraz aforado de 250 mL y se completa hasta el aforo con agua desionizada y se mide el pH, si es ácido se le añaden unas gotas de hidróxido de sodio y si en básico unas gotas de ácido clorhídrico hasta que la disolución tenga pH neutro.
- ✓ Agua desionizada (Conductividad ≤ 1 µS/cm).
- ✓ Balanza analítica digital Denver Instrument, modelo SI- 234, Alemania.

- ✓ Saranda IKA- WERKE modelo KS- 501 D, España.
- ✓ pH metro JENWAY LTD modelo 3020, Inglaterra.
- ✓ Espectrofotómetro de Absorción Atómica, firma PG-Instruments, modelo PG-990.
- ✓ Centrífuga digital, modelo 66763, Alemania.
- ✓ Tubos de centrífuga de 50 mL.
- ✓ Erlenmeyer de 250 mL.
- ✓ Filtros de fibra de vidrio de 0,6-0,8µm.
- ✓ Probetas graduadas de 10 y 100 mL.
- ✓ Beakers de 50 mL.
- ✓ Matraz aforado de 250 mL.

- *Procedimiento*
- Se pesan 2,5 g de residuo seco y se deposita en un tubo de centrífuga de 50 mL.
- Se añaden 25 mL de la disolución extractiva de EDTA, se tapa el tubo y se somete a agitación mecánica horizontal en un agitador recíproco de 180 revoluciones por minuto, durante 2 horas a $20^0$C.
- Se centrifuga la muestra por 10 minutos a 4,000 rpm.
- Posteriormente se filtra la muestra con filtros de fibra de vidrio de 0,6-0,8µm, pero antes se tiene que enjuagar el filtro con $HNO_3$ (1 mol/L) y después enjuagarlo 3 veces con abundante agua destilada (1L mínimo).

El líquido obtenido después de filtrada la muestra se trasvasa a matraces de 50 mL y se completa hasta el aforo con agua desionizada, se preserva y se le determina el contenido de níquel (II) y cromo total.

### 2.1.2.4-Extracciones secuenciales

Para la aplicación del procedimiento Community Boreau of Reference (BCR) de la Comisión de las Comunidades Europeas se seleccionó una muestra compuesta representativa del suelo en el área de muestreo y en el humedal.

*Procedimiento Community Boreau of Reference (BCR)*

- *Materiales y Equipamiento*

- ✓ Disolución de ácido acético 0,11 mol/L: Se pesan 0,6605 g de ácido acético 99% de pureza y se trasvasan a un matraz aforado de 100 mL y se completa hasta el aforo con agua desionizada.
- ✓ Disolución de cloruro de hidroxilamonio 0,1 mol/L: Se pesan 0,6949 g de cloruro de hidroxilamonio y se trasvasan a un matraz aforado de 100 mL y se completa hasta el aforo con agua desionizada y se ajusta el pH a 2.
- ✓ Peróxido de hidrógeno (30%).
- ✓ Agua desionizada (Conductividad ≤ 1 µS/cm).
- ✓ Balanza analítica digital Denver Instrument, modelo SI- 234, Alemania.
- ✓ Saranda IKA- WERKE modelo KS- 501 D, España.
- ✓ pH metro JENWAY LTD modelo 3020, Inglaterra.
- ✓ Espectrofotómetro de Absorción Atómica, firma PG-Instruments, modelo PG-990.
- ✓ Centrífuga digital, modelo 66763, Alemania.
- ✓ Tubos de centrífuga de 50 mL.
- ✓ Beakers de 50 mL.
- ✓ Matraz aforado de 250 mL.

- *Procedimiento*

- Se pesan 0,5 g de residuo y se deposita en un tubo de centrífuga de 30 mL, se le añaden 20 mL de ácido acético 0,11 mol/L y se agita por 16 horas a temperatura ambiente, posteriormente se coloca en la centrífuga para separar el extracto del residuo y se le determina el níquel (II) y cromo total, esta fracción corresponde con las especies solubles, carbonatos y cationes intercambiables (fracción 1).
- Al residuo de la etapa anterior se añaden 20 mL de cloruro de hidroxilamonio y se agita por 16 horas a temperatura ambiente, se procede igual que en el paso anterior, correspondiendo esta fracción con los oxihidróxidos de hierro y manganeso (fracción 2).

- Al residuo del paso dos se le añade 5 mL de peróxido de hidrógeno al 30% y se deja casi hasta sequedad, posteriormente se adicionan 25 mL de acetato de amonio 1 mol/L a pH 2 y se agita a temperatura ambiente por 16 horas, se procede igual que en pasos anteriores, esta fracción corresponde a materia orgánica y sulfuros (fracción 3).
- Al residuo final se le añade HCl y $HNO_3$ y se realiza la digestión, se procede igual que en pasos anteriores (fracción 4).

**2.2-Cinética y eficiencia de remoción**

El estudio cinético de la remoción de níquel II y cromo total se realizó en el sistema experimental II con soluciones patrón de 10 y 20 mg/L de estos metales. Las soluciones fueron preparadas a partir de los patrones descritos anteriormente en el acápite 2.1.1.3. Esta solución presenta un pH de 2,5 unidades, debido a que dichos patrones se preparan en medio ácido. El experimento se llevó a cabo con un flujo discontinuo, pasando el agua residual desde un tanque colocado a un nivel superior hacia el humedal subsuperficial, tomando muestras del agua residual afluente ($C_0$) y efluente ($C_e$) cada 5; 10; 15; 20; 30; 45; 60; 75; 90; 105 y 120 minutos respectivamente, fueron realizadas 3 réplicas de estos experimentos.

La eficiencia de remoción de los metales en el humedal experimental se determinó según la ecuación 2.1 teniendo en cuenta la concentración de níquel y cromo en el afluente y efluente tanto a los patrones preparados como a la muestra ensayo del INPUD. Las muestras de agua residual de la industria se tomaron de acuerdo al procedimiento establecido por el Instituto Nacional de Recursos Hidráulico para muestras compuestas (INRH, 2004).

$$\frac{(C_0 - C_f)}{C_0} * 100 \qquad (1.2)$$

# CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 3.1-Influencia de la planta en la remoción de metales

### 3.1.1-Evaluación del comportamiento de níquel II y cromo total en las plantas *Cyperus Alternifolius, Heliconia Rostrata y Heliconia Wagneriana*

Con el objetivo de conocer la influencia del suelo y la planta en la remoción, se procedió a realizar el análisis de los metales en estos componentes una vez finalizado los tratamientos. Los resultados obtenidos a partir del análisis del sistema experimental I, el cual estuvo sometido a un año de experimentación incluyendo en este un período 6 meses de reposo, muestran una menor concentración de níquel en los tres órganos de la planta analizada *Cyperus Alternifolius* (Figura 3.1), ya que ocurrió un crecimiento de la planta y con ello el incremento de la biomasa, sobre todo de la hoja. En el caso del seudo tallo no es muy apreciable la disminución de la concentración por el poco crecimiento del mismo además de ser la vía de transporte (Kursanov, 1963).

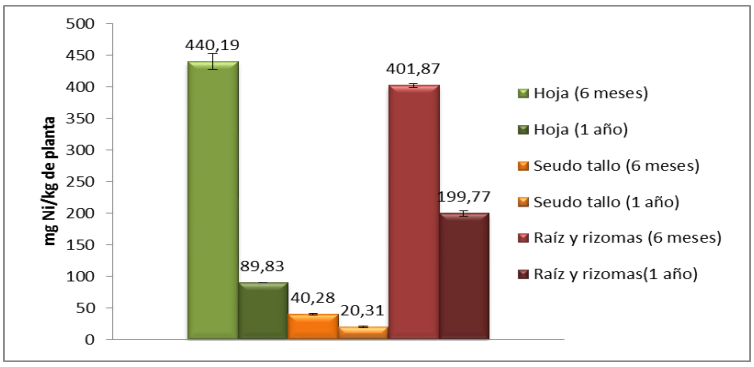



**Figura 3.1.** Contenido de níquel en la planta *Cyperus Alternifolius.*

La evaluación del cromo en la planta *Cyperus Alternifolius* se muestra en la Figura 3.2, acumulándose más en las raíces y rizomas que en los demás órganos, tanto para los seis meses como después de haber transcurrido un año. La acumulación de dicho metal es mucho menor que la del níquel, evidencia entonces que la selectividad de dicha especie por el níquel es mayor que por el cromo, siendo este último mucho más tóxico (Shahid et al.,

2017), también se infiere que la planta con su crecimiento puede acumular mayor concentración de estos metales.

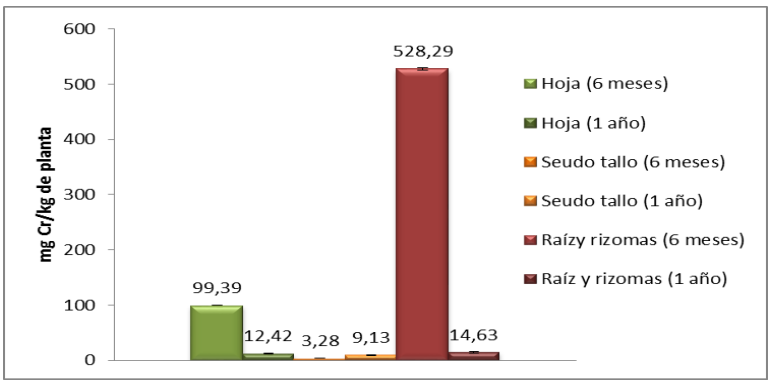



**Figura 3.2.** Contenido de cromo en la planta *Cyperus Alternifolius.*

La especie *Heliconia Rostrata* presenta mayores concentraciones de níquel que la especie *Heliconia Wagneriana* (Figura 3.3), siendo los rizomas y las raíces los que muestran mayores valores para ambas especies. La concentración de níquel en las hojas de ambas especies no presenta diferencia estadísticamente significativa ($p \geq 0,05$), sin embargo en los tallos y raíces si presenta diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$), siendo mayor en la especie Rostrata. Se observa una menor concentración en las hojas de las Heliconias que en el *Cyperus Alterniufolius,* evidenciando una mejor asimilación del níquel en esta última planta. Los datos del análisis estadístico se muestran en el Anexo 3.

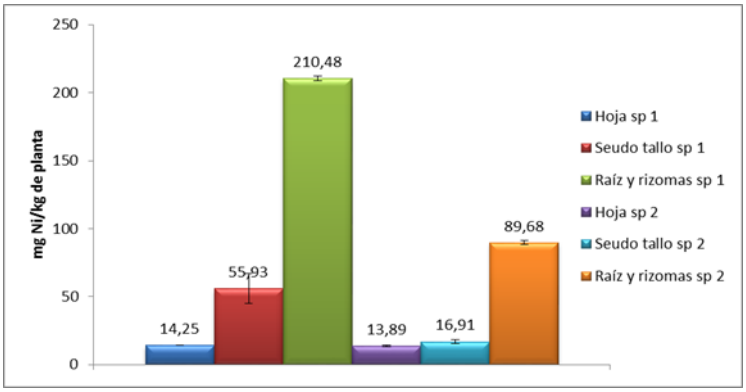



**Figura 3.3.** Contenido de níquel en las plantas *Heliconia Rostrata y Wagneriana.*

La acumulación del cromo en las plantas *Heliconia Rostrata y Wagneriana* son menores que la del níquel (Figura 3.4), ninguna de las dos especies

logra transportar dicho metal hasta las hojas, solo en caso de la *Heliconia Rostrata* se aprecia una concentración de 18,17 mg/kg en el seudo tallo. Las raíces y rizomas fue la porción de mayor acumulación, siendo la especie anterior la de mejores resultados en la retención de este metal, con diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$), como se reporta por (Drzewiecka et al., 2007).

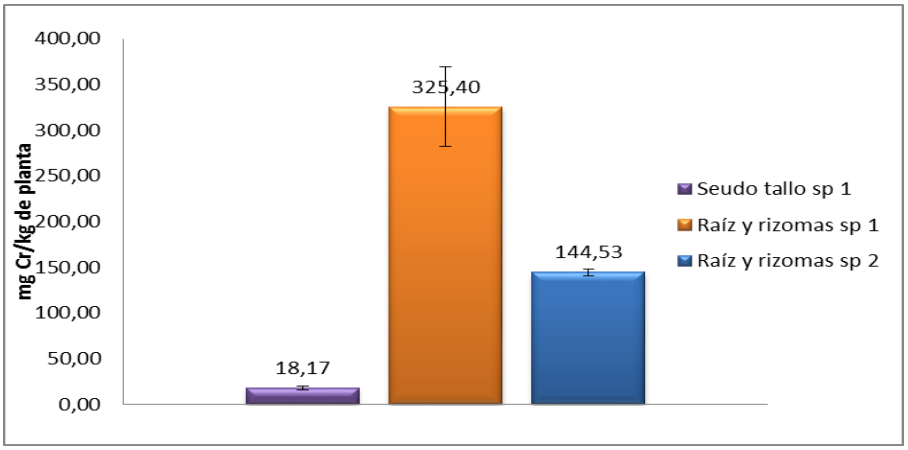



**Figura 3.4.** Contenido de cromo en la planta *Heliconia Rostrata y Wagneriana.*

De todas las especies de plantas analizadas, el *Cyperus Alterniufolius* mostró mayor potencial de acumulación tanto de níquel como de cromo a los seis meses de exposición a los metales. Esta planta también presenta mayor capacidad de transportación de estos metales hacia la parte aérea que las especies de heliconias, donde no se detectó este metal en las hojas.

### 3.2-Influencia del suelo en la remoción de los metales

#### Determinación de pH, conductividad eléctrica y potencial redox del suelo

En la Tabla 3.1 se muestran los valores de pH, conductividad eléctrica y potencial redox de los suelos antes y después de realizados los experimentos. Se observa una disminución de los valores de pH tanto potásico como acuoso a los seis meses de experimentación, debido fundamentalmente a la acidez de la solución patrón utilizada. Al trascurrir un año el mismo aumentó por la no exposición a dicha solución y el desarrollo de transformaciones en el humedal. La conductividad se comporta similar al

pH, primero aumenta a los seis meses y luego disminuye al año, ya que en medio ácido las especies presentan mayor solubilidad, estando en correspondencia con los valores de pH obtenidos. En cuanto al potencial redox no se observan grandes variaciones, solo que al año las condiciones oxidantes son superiores a la de los seis meses, estos ambientes se deben fundamentalmente a la poca profundidad y al crecimiento de las plantas en los sistemas en estudio.

**Tabla 3.1.** Valores de pH, conductividad eléctrica y potencial redox en el suelo.

| **Parámetros** | Suelo antes | Suelo después 6 meses | Suelo después 1 año |
|---|---|---|---|
| **pH potásico (u)** | 5,74 ± 0,03 | 4,29 ± 0.06 | 7,35 ± 0,05 |
| **pH acuoso (u)** | 6,81 ± 0,02 | 5,00 ± 0,04 | 7,69 ± 0,06 |
| **CE (µs/cm)** | 130 ± 3 | 764 ± 12 | 290 ± 9 |
| **Potencial redox (mV)** | - | 259 ± 56 | 352 ± 23 |

**Extracciones Simples**

Se realizaron dos extracciones simples de los metales retenidos en el suelo:

1. La extracción con agua, que muestra la posibilidad de que los metales puedan ser lixiviados y devueltos a los cuerpos de agua, siendo la primera valoración de la movilidad de un metal.
2. La extracción con EDTA, que es una medida de la posible transferencia de los metales a las plantas (biodisponibilidad).

Para realizar estas extracciones se aplicó el procedimiento descrito en el capítulo II.

Como se observa en la Figura 3.5, para el níquel se obtuvo un mayor valor de concentración en el caso de las extracciones con EDTA y la extracción con agua presenta una menor concentración del metal después de estar sometido a un año de experimentación, incluyendo en este un período de seis meses de reposo. La concentración de níquel en ambos extractos presentó diferencias estadísticamente significativas en el tiempo ($p \leq 0,05$) Esta fracción del metal pudo ser lixiviada por exposición del sistema a las

condiciones climatológicas o asociación con especies menos solubles. El cromo se comporta de una manera diferente, todos los extractos obtenidos muestran concentraciones con valores por debajo de 10 mg/kg, demostrando que el cromo retenido en el suelo se encuentra asociado a especies menos solubles y asimilables, estos resultados se corresponden con lo reportado por (Ražić y Đogo, 2010). En ambos extractos se observa diferencias estadisticamente significativas en el tiempo ($p \leq 0,05$).

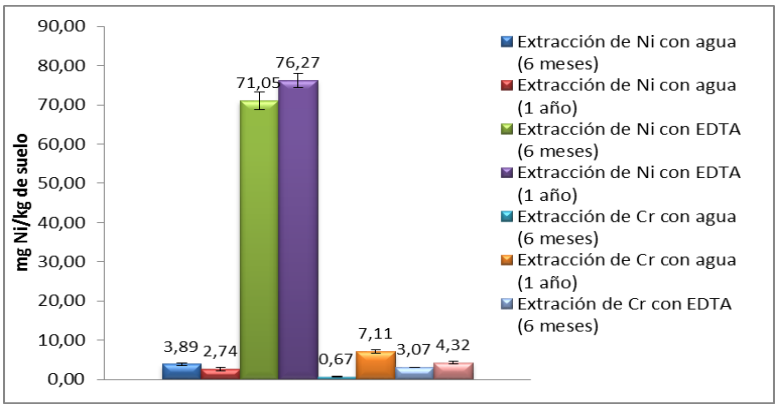



**Figura 3.5.** Níquel y cromo (soluble y biodisponible) retenido en el suelo para el sistema experimental I.

Los resultados de las extracciones simples en el sistema experimental II, con solamente el efecto de seis meses de exposición a la contaminación (Figura 3.6), muestran que para ambos metales se obtuvo un mayor valor de concentración en las extracciones con EDTA que con agua, lo que afirma la mayor probabilidad de estos metales a ser absorbidos por las plantas que de ser lixiviados hacia un cuerpo de agua y por consiguiente aportar una menor contaminación. Los extractos realizados presentan mayor concentración de níquel que de cromo, evidenciando que este último está menos disponible en el sustrato para ser lixiviado y absorbido por las plantas, lo que está en correspondencia con los resultados obtenidos en el análisis de los metales en las diferentes partes de la planta.

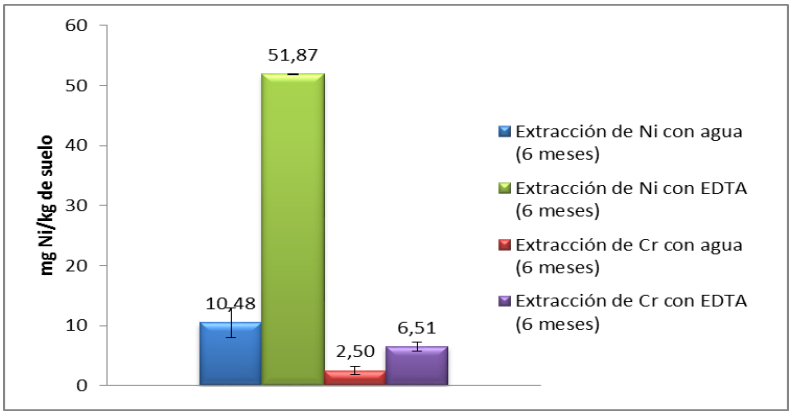



**Figura 3.6.** Níquel y cromo (soluble y biodisponible) retenido en el suelo para el sistema experimental II.

**Extracciones secuenciales**

Las extracciones secuenciales permiten conocer a que especies preferentemente se asocian los metales en el suelo y en correspondencia con esto el grado de contaminación que puede tener el suelo una vez usado en el experimento. En los análisis realizados se observa el incremento de la concentración de níquel con el avance de las extracciones (Figura 3.7), siendo la fracción residual la que más concentración de níquel presenta (Reddy et al., 2001). En correspondencia con estos resultados se obtiene un factor de contaminación bajo (0,66), con una menor posibilidad de movilidad del metal. La menor concentración de níquel obtenida en la fracción asociada a especies solubles esta en correspondencia con los resultados obtenidos en las extracciones simples.

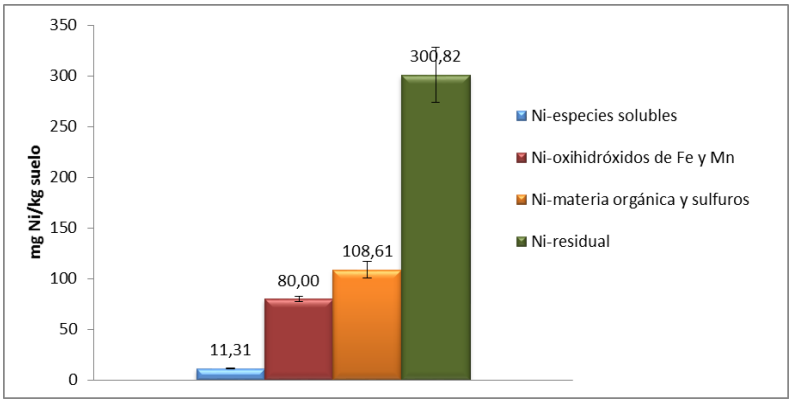



**Figura 3.7.** Especiación del níquel retenido en el suelo del sistema experimental I.

El cromo se comporta de una manera diferente al níquel, como se muestra en la Figura 3.8 la fracción residual es la mayoritaria ocupando el 94 % del metal extraído, quedando dicho contaminante inmovilizado prácticamente completo en el sustrato (Mulligan et al., 2001) siendo el principal factor de remoción de cromo en el sistema de estudio. En comparación con el níquel, las fracciones anteriores a la residual tienen una menor concentración del metal, siendo el menor valor de factor de contaminación obtenido (0,063).

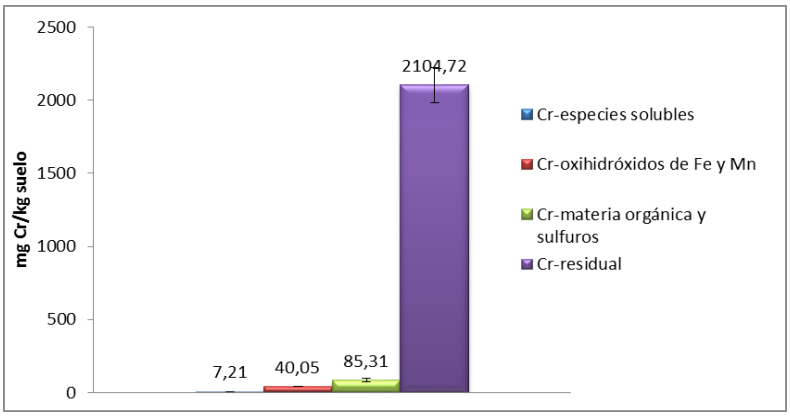



**Figura 3.8.** Especiación del cromo retenido en el suelo del sistema experimental I.

El sistema experimental II después de seis meses de exposición a disoluciones de cromo y níquel presenta un predominio de este último metal en la fracción residual (69,9 %), presentando una concentración del metal similar en las tres fracciones restantes (Figura 3.9). El factor de contaminación obtenido en este suelo (0,43) fue muy similar al obtenido en el sistema experimental I.

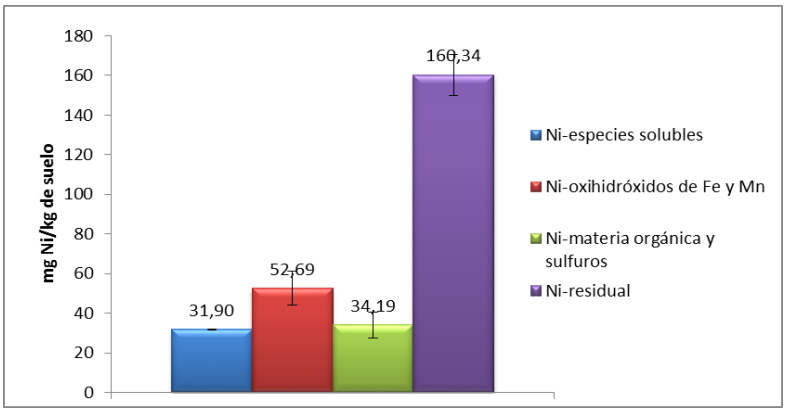



**Figura 3.9.** Especiación del níquel retenido en el suelo del sistema experimental II.

Se observa en la Figura 3.10 que el cromo se asocia fundamentalmente a las últimas tres fases, de ellas predomina la fracción donde el metal se relaciona a la materia orgánica y sulfuros. Aunque el método de las extracciones secuenciales según el BCR (Mossop y Davidson, 2003) establece que en la tercera fracción el metal está relacionado con sulfuros y materia orgánica en este caso el mayor porciento lo representa este último ya que el suelo según (Medina et al., 2017) solo contiene sulfuros en trazas y de un 3 al 5 % de materia orgánica. El factor de contaminación presentó el valor más elevado en este experimento realizado a los seis meses de exposición al metal (2,82), contrario a lo ocurrido en el sistema experimental I donde se tuvo un período de reposo, mostrando que el cromo retenido en el suelo sufre transformaciones en el tiempo, hasta asociarse a la fracción de menor movilidad.

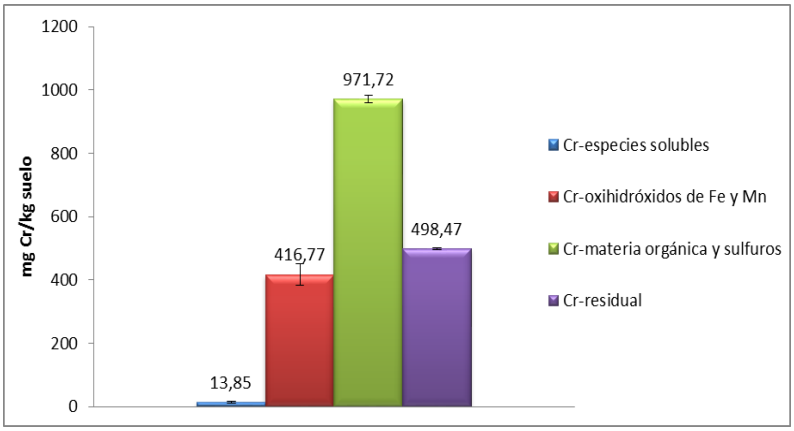



**Figura 3.10.** Especiación del cromo retenido en el suelo del sistema experimental II.

En el sistema experimental II la mayor retención de níquel ocurrió en la especie de *Heliconia Rostrata* como se observa en la Figura 3.11, siendo más significativa la remoción de este metal en la planta que en el suelo.

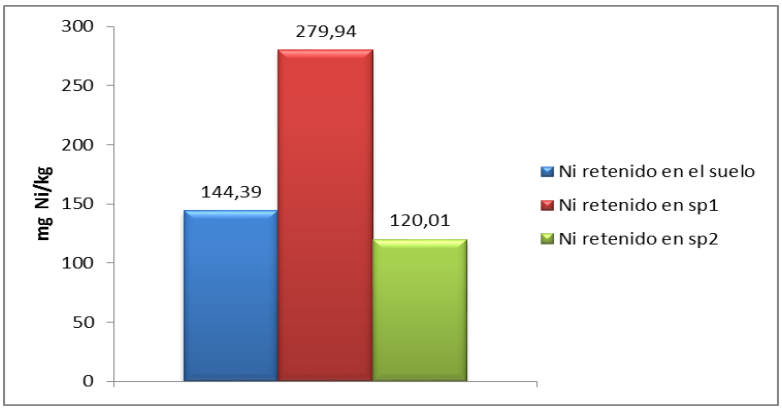



**Figura 3.11.** Relación níquel retenido en la planta y suelo.

La especie *Rostrata* también mostró mejores resultados en la acumulación de cromo que la *Wagneriana,* aunque la mayor porción de este metal se retuvo en el suelo (Figura 3.12). De las dos especies de Heliconia evaluadas la *Rostrata* presenta mayor potencial para ser empleada como fitorremediadora de níquel y cromo.

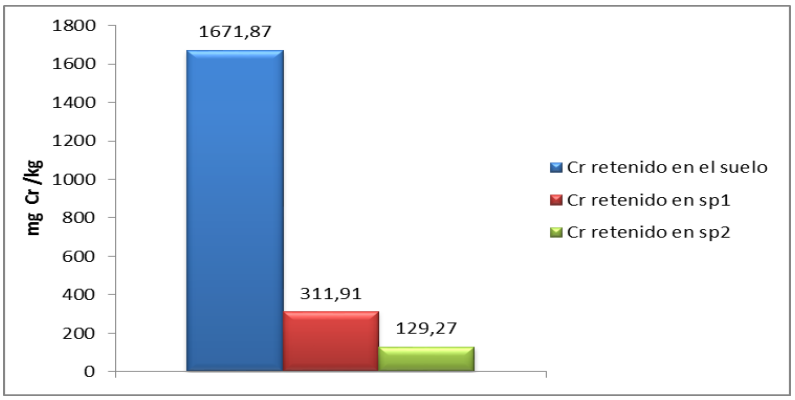



**Figura 3.12.** Relación de cromo retenido en la planta y el suelo.

## 3.3-Cinética y eficiencia de remoción de níquel II y cromo total en el humedal subsuperficial horizontal

### 3.3.1-Cinética

El estudio cinético se realiza solamente en el sistema experimental II porque el humedal plantado con *Cyperus Alterniufolius* fue evaluado anteriormente por (Morera., 2016). Los valores medios y la desviación estándar de los datos experimentales obtenidos de la remoción de níquel en el humedal se muestran en la Tabla 3.2. En el estudio cinético de la solución patrón de

níquel de 10 mg/L y del cromo tanto para 10 como 20 mg/L se obtiene una remoción por debajo del límite de cuantificación antes de los 5 minutos.

En el tratamiento del agua residual con el humedal subsuperficial se produce una disminución de la concentración de los metales desde los primeros 5 minutos de retención, demostrando la efectividad de estos sistemas naturales de tratamiento para la remoción de metales. Se observa además que el pH comienza a ser neutro desde los 90 minutos.

**Tabla 3.2.** Valores medios y desviación estándar de los ensayos realizados

| Tiempo (minutos) | C (Ni) mg/L | Desviación Estándar | pH |
|---|---|---|---|
| **0** | 19,79 | 0,43 | 2,07 |
| **5** | 0,12 | 0,06 | 6,74 |
| **10** | 0,16 | 0,18 | 6,86 |
| **15** | 0,08 | 0,16 | 7,1 |
| **20** | 0,16 | 0,15 | 6,4 |
| **30** | 0,67 | 0,17 | 6,6 |
| **45** | 1,30 | 0,13 | 6,65 |
| **60** | 0,55 | 0,10 | 6,83 |
| **75** | 0,82 | 0,09 | 6,97 |
| **90** | 0,59 | 0,12 | 7,05 |
| **105** | 0,43 | 0,10 | 7,05 |
| **120** | **0,35** | **0,08** | **7,06** |

Se realizó el ajuste de estos datos determinados experimentalmente a los modelos cinéticos más reportados (Reed y Crites, 1995; Kadlec y Knight, 1996; Mitchell y McNevin, 2001; Vymazal, 2005): para la remoción de contaminantes mediante humedales subsuperficiales.

Modelo de primer orden: es el modelo más utilizado para estimar la remoción de los contaminantes en estos sistemas (Reed y Crites, 1995; Kadlec y Zmarthie, 2010).

Modelo de orden cero: se reporta principalmente para altas concentraciones de los contaminantes en el agua residual.

Modelo de saturación o Monod: según diferentes autores (Mitchell y McNevin, 2001); puede explicar el comportamiento cinético de primer orden para bajas concentraciones y de cero orden para altas concentraciones.

Modelo de segundo orden, (Kyambadde y Kansiime, 2005). Reportado principalmente para procesos químicos de remoción.

La ecuación de la recta y el coeficiente de correlación para dichos modelos se muestran en la Tabla 3.3, observándose un mejor ajuste para el níquel II al modelo de Saturación o Monod, resultados similares a los obtenidos por Morera, 2016. Este modelo es el modelo típico reportado para humedales subsuperficiales (Mitchell y McNevin, 2001; Vymazal, 2005; Reed y Crites, 1995).

Tabla 3.3. Modelos cinéticos para el níquel II.

| Modelo cinético | | Níquel II | |
|---|---|---|---|
| **Cero orden** | $Co - Ce = k * t$ | $Co - Ce = 0{,}0042 * t + 19{,}078$ | $R^2 = 0{,}8510$ |
| **Primer orden** | $ln\frac{Co}{Ce} = -k * t$ | $\ln\frac{Co}{Ce} = -0{,}0087 * t - 3.293$ | $R^2 = 0{,}9145$ |
| **Segundo orden** | $\frac{1}{Ce} - \frac{1}{Co} = k * t$ | $\frac{1}{Ce} - \frac{1}{Co} = 0{,}0192 * t + 1{,}2025$ | $R^2 = 0{,}9851$ |
| **Saturación** | $\frac{1}{t} ln\frac{Ce}{Co} = \frac{k}{K} + \frac{1}{K}(\frac{Ce-Co}{t})$ | $\frac{1}{t(\ln\frac{Ce}{Co})} = 0{,}1668 * (\frac{Ce-Co}{t}) - 0{,}01$ | **$R^2 = 0{,}9997$** |

El comportamiento cinético tanto para el sistema experimental con Heliconias, como el de *Cyperus Alterniufolius* evaluado por Morera, 2016 es muy similar para la remoción de níquel, existiendo una correspondencia con el ajuste al modelo de saturación y a las constantes obtenidas (Tabla 3.4). Estas constantes permiten el diseño de humedales subsuperficiales horizontales para la remoción de níquel II a mayor escala para las condiciones específicas en que fueron obtenidas, siendo de gran utilidad para el empleo de estos métodos naturales de tratamiento en industrias que emiten efluentes contaminados con este metal.

**Tabla 3.4.**Constantes cinéticas del níquel II.

| Níquel | | |
|---|---|---|
| | **Constante de Saturación (K) (mg/L)** | **6,0** |
| | **Constante cinética (k) (mg $L^{-1}min^{-1}$)** | **-0.07** |

### 3.3.2-Determinación de níquel y cromo en el agua residual del INPUD

Los valores promedios y la desviación estándar de los parámetros determinados del agua residual de la INPUD ¨1$^{ro}$ de Mayo¨ se muestran en la Tabla 3.5. Como se puede observar el agua residual efluente de la planta de tratamiento presenta altas concentraciones de níquel, no siendo así para el cromo total ya que el proceso de cromado no se está efectuando actualmente en la empresa. La concentración de níquel tanto a la salida de la planta de niquelado como a la entrada y salida de la planta de tratamiento presenta valores superiores a los límites establecidos internacionalmente, la mayoría de los países de América Latina establecen un límite de 2 mg/L (MOP, 2000; Mexicana, 1996) y el cual corresponde con la (NC: 521, 2007) para vertimiento en zonas costeras. No reportándose Límite Máximo Permisible Promedio (LMPP) para este metal en la Norma Cubana de Vertimiento a aguas terrestres y alcantarillado (NC: 27, 2012).

Muestra I. Salida de Planta de tratamiento CUBALUX. Niquelado.

Muestra II. Salida de Planta de tratamiento CUBALUX. Cromado.

Muestra III. Entrada a la Planta de tratamiento de residuales.

Muestra IV. Salida de Planta de tratamiento de residuales.

**Tabla 3.5.** Resultados de la determinación de Cr y Ni en el agua residual.

| ***Ensayo realizado*** | ***Muestra I*** | ***Muestra II*** | ***Muestra III*** | ***Muestra IV*** | ***Límite*** |
|---|---|---|---|---|---|
| ***Cromo total (mg/L)*** | 0,36±0.05 | 0,79±0.03 | 1,04±0.06 | 0,72±0.05 | 2.00 |
| ***Cromo VI (mg/L)*** | ≤0.01 | ≤0.01 | ≤0.01 | ≤0.01 | 0.5 |
| ***Níquel (mg/L)*** | **9,12 ± 0,35** | 0.475±0.24 | **8.95±0.16** | **8.78±0,31** | 2.00 |

Los valores de concentración de los contaminantes a la entrada y salida de la planta de tratamiento (Tabla 3.5), son similares, obteniéndose eficiencia de remoción de níquel en la planta de tratamiento de 1,90 %. Prácticamente no ocurre remoción de este contaminante en la planta ya que es una

tecnología obsoleta con mantenimiento y operación deficiente. Por tanto para lograr que el agua residual efluente cumpla con los límites de vertimiento se hace necesario la implementación de un sistema de tratamiento eficiente y de bajo costo de operación y mantenimiento.

### 3.3.3-Eficiencia de la remoción de níquel II y cromo total en el sistema de tratamiento experimental II

En la Tabla 3.6 se muestran los resultados de la remoción de níquel II y cromo total en el humedal experimental, observándose las altas eficiencias de remoción alcanzadas, lo que está en correspondencia con lo reportado por (Vera y González, 2015). La muestra de agua residual procedente de la empresa tiene un comportamiento similar a los patrones evaluados, obteniéndose eficiencias de remoción de 99 %. Los valores obtenidos se encuentran por debajo del límite de vertimiento (2 mg/L). Estos resultados brindan la posibilidad de proponer los humedales subsuperficiales como sistema de tratamiento de las aguas residuales efluentes de la INPUD.

**Tabla 3.6.** Evaluación del comportamiento de la remoción de níquel II y cromo total.

| Parámetro | Afluente Humedal | Efluente Humedal | % Remoción |
|---|---|---|---|
| **Patrón (Cr total) (10 mg/L)** | 11,23 ± 0,41 | ≤ 0,01 | ≥ 99,91 |
| **Patrón (Ni) (10 mg/L)** | 10,48 ± 0,49 | ≤ 0,01 | ≥ 99,90 |
| **Patrón (Cr total) (20 mg/L)** | 19,32 ± 1,46 | ≤ 0,01 | ≥ 99,95 |
| **Patrón (Ni) (20 mg/L)** | 19,79 ± 0,43 | 0,30 ±0,06 | 98.48 |
| **Muestra INPUD (Ni) (mg/L)** | 8,78 ± 0,31 | 0,08 ±0,006 | 99.00 |

# CONCLUSIONES

1. De todas las especies evaluadas el Cyperus Alternifolius fue la que mejores resultados mostró en la retención de níquel y cromo, acumulándose fundamentalmente el níquel en las hojas y el cromo en las raíces.
2. La especie *Heliconioa Rostrata* presentó una mayor acumulación de los dos metales analizados que la *Heliconia Wagneriana,* siendo mejor la asimilación del níquel que el cromo.
3. Las mayores concentraciones de metal obtenidas en las extracciones simples se obtuvieron para el níquel en el extracto con EDTA, fracción biodisponible que puede ser asimilada por las plantas, mientras que la fracción soluble presentó bajas concentraciones de ambos metales.
4. En las extracciones secuenciales realizadas se evidenció una tendencia, con el transcurso del tiempo, a que las especies pasen a la fase residual, siendo mayor esta tendencia para el cromo que el níquel, representando una menor movilidad de los metales retenidos en el suelo.
5. El humedal experimental plantado con las dos especies de Heliconia mostró eficiencias de remoción mayores de 98% para ambos metales, tanto para las soluciones patrones como para el efluente de la INPUD ¨Primero de Mayo¨.
6. La remoción de Níquel en el humedal con Heliconia mostró el mejor ajuste al modelo cinético de Saturación o Monod para la concentración de 20 mg/L, coincidiendo con la cinética de remoción obtenida anteriormente en el humedal con *Cyperus Alterniufolius*.

# RECOMENDACIONES

1. Evaluar la capacidad de sorción de níquel y cromo del suelo ferralítico rojo a diferentes temperaturas para obtener los parámetros termodinámicos.
2. Aplicar soluciones acomplejantes en el suelo para evaluar la asimilación de los metales por la planta.
3. Proponer la implementación del sistema de tratamiento evaluado para las aguas residuales de la INPUD ¨Primero de Mayo.¨

## BIBLIOGRAFÍA

OKA, M., FUJII, Y., SODA, S., ISHIGAKI, T., MACHIMURA, T. & IKE, M. 2017. Removal of heavy metals from synthetic landfill leachate in lab-scale vertical flow constructed wetlands. *Science of The Total Environment,* 584–585**,** 742-750.

AKINYELE, I. O. & SHOKUNBI, O. S. 2015. Comparative analysis of dry ashing and wet digestion methods for the determination of trace and heavy metals in food samples. *Food Chemistry,* 173**,** 682-684.

ALAHABADI, A., EHRAMPOUSH, M. H., MIRI, M., EBRAHIMI AVAL, H., YOUSEFZADEH, S., GHAFFARI, H. R., AHMADI, E., TALEBI, P., ABASZADEH FATHABADI, Z., BABAI, F., NIKOONAHAD, A., SHARAFI, K. & HOSSEINI-BANDEGHARAEI, A. 2017. A comparative study on capability of different tree species in accumulating heavy metals from soil and ambient air. *Chemosphere,* 172**,** 459-467.

ALMEIDA, C. M. R., SANTOS, F., FERREIRA, A. C. F., GOMES, C. R., BASTO, M. C. P. & MUCHA, A. P. 2017. Constructed wetlands for the removal of metals from livestock wastewater – Can the presence of veterinary antibiotics affect removals? *Ecotoxicology and Environmental Safety,* 137**,** 143-148.

APHA, AWWA & WEF 2005. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater,* Washington, DC, USA.

BAÑUELOS-HERNÁNDEZ, K. P., GARCÍA-NAVA, J. R., LEYVA-OVALLE, O. R., PEÑA-VALDIVIA, C. B. & YBARRA-MONCADA, M. C. 2016. Flowering stem storage of Heliconia psittacorumL. f. cv. Trópica. *Postharvest Biology and Technology,* 112**,** 159-169.

BARAUD, F. & LELEYTER, L. 2012. Prediction of phytoavailability of trace metals to plants: Comparison between chemical extractions and soil-grown radish. *Comptes Rendus Geoscience,* 344**,** 385-395.

BASTVIKEN, S. K., WEISNER, S. E. B., THIERE, G., SVENSSON, J. M., EHDE, P. M. & TONDERSKI, K. S. 2009. Effects of vegetation and hydraulic load on seasonal nitrate removal in treatment wetlands. *Ecological Engineering,* 35**,** 946-952.

CENTA, C. D. L. N. T. D. L. A. 2005. Mejora de la calidad de las aguas costeras y de recreo.

DEGREMONT 1979. *Water Treatment Handbook*.

DRZEWIECKA, K., MLECZEK, M., GĄSECKA, M., MAGDZIAK, Z., BUDKA, A., CHADZINIKOLAU, T., KACZMAREK, Z. & GOLIŃSKI, P. Copper and nickel co-treatment alters metal uptake and stress parameters of Salix purpurea × viminalis. *Journal of Plant Physiology*.

EBBERS, B., OTTOSEN, L. M. & JENSEN, P. E. 2015. Electrodialytic treatment of municipal wastewater and sludge for the removal of heavy metals and recovery of phosphorus. *Electrochimica Acta,* 181**,** 90-99.

EPA 2000. Parameters and norms for water pollutions.

FAVAS, P. J. C., PRATAS, J., GOMES, M. E. P. & CALA, V. 2011. Selective chemical extraction of heavy metals in tailings and soils contaminated

by mining activity: Environmental implications. *Journal of Geochemical Exploration,* 111**,** 160-171.

FERNÁNDEZ-ONDOÑO, E., BACCHETTA, G., LALLENA, A. M., NAVARRO, F. B., ORTIZ, I. & JIMÉNEZ, M. N. 2017. Use of BCR sequential extraction procedures for soils and plant metal transfer predictions in contaminated mine tailings in Sardinia. *Journal of Geochemical Exploration,* 172**,** 133-141.

FERNÁNDEZ, G. 2003. *Procesos de estabilización para residuos peligrosos.* Segunda parte, Universidad de Andalucía.

FIROUZABADI, Z. D., SHABANI, A. M. H., DADFARNIA, S. & EHRAMPOUSH, M. H. 2017. Preconcentration and speciation of thallium by ferrofluid based dispersive solid phase extraction and flame atomic absorption spectrometry. *Microchemical Journal,* 130**,** 428-435.

FUENTES, A., LLORÉNS, M., SÁEZ, J., SOLER, A., AGUILAR, M. I., ORTUÑO, J. F. & MESEGUER, V. F. 2004. Simple and sequential extractions of heavy metals from different sewage sludges. *Chemosphere,* 54**,** 1039-1047.

GALÁN, E., GÓMEZ-ARIZA, J. L., GONZÁLEZ, I., FERNÁNDEZ-CALIANI, J. C., MORALES, E. & GIRÁLDEZ, I. 2003. Heavy metal partitioning in river sediments severely polluted by acid mine drainage in the Iberian Pyrite Belt. *Applied Geochemistry,* 18**,** 409-421.

GARCÍA, R. A. B. & REYES, Y. A. S. 2009. Fitorremediación de metales pesados y microorganismos. *Medio Ambiente y Desarrollo***,** 1-6.

GÓMEZ ARIZA, J. L., GIRÁLDEZ, I., SÁNCHEZ-RODAS, D. & MORALES, E. 2000. Comparison of the feasibility of three extraction procedures for trace metal partitioning in sediments from south-west Spain. *Science of The Total Environment,* 246**,** 271-283.

GONZÁLEZ, Y., M . 2016. Humedales subsuperficiales horizontales en la depuración de agua oleosas. Cinética de remocion de DQO. *Afinidad,* 73.574.

GU, Y.-G., GAO, Y.-P. & LIN, Q. 2016. Contamination, bioaccessibility and human health risk of heavy metals in exposed-lawn soils from 28 urban parks in southern China's largest city, Guangzhou. *Applied Geochemistry,* 67**,** 52-58.

HAMDOUN, H., LELEYTER, L., VAN-VEEN, E., COGGAN, J., BASSET, B., LEMOINE, M. & BARAUD, F. 2015. Comparison of three procedures (single, sequential and kinetic extractions) for mobility assessment of Cu, Pb and Zn in harbour sediments. *Comptes Rendus Geoscience,* 347**,** 94-102.

HARGREAVES, A. J., VALE, P., WHELAN, J., CONSTANTINO, C., DOTRO, G., CAMPO, P. & CARTMELL, E. 2017. Distribution of trace metals (Cu, Pb, Ni, Zn) between particulate, colloidal and truly dissolved fractions in wastewater treatment. *Chemosphere,* 175**,** 239-246.

IZQUIERDO, V. 2013. *Evaluación de una alternativa sostenible a escala de laboratorio para el tratamiento de los residuales de las centrales eléctricasque operan con diesel.*, Universidad Cental Marta Abreu de las Villas.

INRH, I. N. D. R. H. 2004. Procedimiento para la aplicación de la norma NC 27-1999. *Vertimiento de aguas residuales a las aguas terrestres y al alcantarillado. Especificaciones*

KADLEC, R. H. & ZMARTHIE, L. A. 2010. Wetland treatment of leachate from a closed landfill. *Ecological Engineering,* 36**,** 946-957.

KURSANOV, A. L. 1963. Metabolism and the Transport of Organic Substances in the Phloem. *In:* PRESTON, R. D. (ed.) *Advances in Botanical Research.* Academic Press.

KYAMBADDE, J., KANSIIME, F. & DALHAMMAR, G. 2005. Nitrogen and phosphorus removal in substrate-free pilot constructed wetlands with horizontal surface flow in Uganda. *Water Air and Soil Pollution,* 165**,** 37-59.

LAHORA, A. 2007. *Los humedales artificiales como tratamiento terciario de bajo costo en la depuración de aguas residuales.* [Online].

LÓPEZ GUERRERO, M. M., SILES CORDERO, M. T., VEREDA ALONSO, E., GARCÍA DE TORRES, A. & CANO PAVÓN, J. M. 2017. Cold vapour generation electrothermal atomic absorption spectrometry and solid phase extraction based on a new nanosorbent for sensitive Hg determination in environmental samples (sea water and river water). *Microchemical Journal,* 132**,** 274-279.

LÓPEZ LOZANO, L., PALAZÓN BRU, I., PALAZÓN BRU, A., ARROYO FERNÁNDEZ, M. & GONZÁLEZ-ESTECHA, M. 2015. Procedimiento de validación de un método para cuantificar cobalto en suero por espectroscopia de absorción atómica con atomización electrotérmica. *Revista del Laboratorio Clínico,* 8**,** 46-51.

MAINE, M. A., SUNE, N., HADAD, H. & SANCHEZ, G. 2007. Temporal and spatial variation of phosphate distribution in the sediment of a free water surface constructed wetland. *Science of the Total Environment,* 380**,** 75-83.

MAMO, M., GUPTA, S. C., ROSEN, C. J. & SINGH, U. B. 2005. Phosphorus leaching at cold temperatures as affected by wastewater application and soil phosphorus levels. *Journal of Environmental Quality,* 34**,** 1243-1250.

MANN, S. S. & RITCHIE, G. S. P. 1995. Forms of cadmium in sandy soils after amendment with soils of higher fixing capacity. *Environmental Pollution,* 87**,** 23-29.

MEDINA, H., DE JONG VAN LIER, Q., GARCÍA, J. & RUIZ, M. E. 2017. Regional-scale variability of soil properties in Western Cuba. *Soil and Tillage Research,* 166**,** 84-99.

MEFTCALF & EDDY 1995. Tratamiento vertido y reutilización. . *Ingeniería de aguas residuals*.

MITCHELL, C. & MCNEVIN, D. 2001. Alternative analysis of BOD removal in subsurface flow constructed wetlands employing Monod kinetics. *Water Research,* 35**,** 1295-1303.

MORENO, D., PEDROCCHI, C., COMIN, F. A., GARCIA, M. & CABEZAS, A. 2007. Creating wetlands for the improvement of water quality and

landscape restoration in semi-arid zones degraded by. *Ecological Engineering,* 30**,** 103-111.

MORERA. 2016. Evaluación de la eficiencia de humedales subsuperficiales para la remoción de Cromo total y Níquel (II) en aguas residuales industriales. 65.

MOSSOP, K. F. & DAVIDSON, C. M. 2003. Comparison of original and modified BCR sequential extraction procedures for the fractionation of copper, iron, lead, manganese and zinc in soils and sediments. *Analytica Chimica Acta,* 478**,** 111-118.

MULLIGAN, C. N., YONG, R. N. & GIBBS, B. F. 2001. Remediation technologies for metal-contaminated soils and groundwater: an evaluation. *Engineering Geology,* 60**,** 193-207.

NC: 27 2012. Vertimiento de aguas residuales a las aguas terrestres y al alcantarillado. Especificaciones.

OUYANG, Y., LUO, S. M., CUI, L. H., LIU, Y. H. & QIN, Z. 2010. Estimation of water dynamics in a vertical-flow constructed wetland with a growing plant species. *Journal of Soils and Sediments,* 10**,** 1219-1228.

PANT, H. K., REDDY, K. R. & LEMON, E. 2001. Phosphorus retention capacity of root bed media of sub-surface flow constructed wetlands. *Ecological Engineering,* 17**,** 345-355.

PÉREZ, M., HERNANDEZ , J., BOSSENS, J., ROSA, E. & TACK, F. 2014a. Verticalflow constructed wetlands: kinetics of nutrient and organic matter removal. *Water Science & Technology*.

PÉREZ, M., ROSA, E., MARTÍNEZ, P., LÓPEZ, M., GONZÁLEZ, Y. & MONTEAGUDO, M. 2009. Evaluación de la eficiencia de diferentes sustratos de filtros de suelo plantados en la depuración de aguas residuales domésticas. *CENIC Ciencias Biológicas.,* 40**,** 99-103.

PÉREZ, M. M. 2013. *Evaluación del Comportamiento de Humedales Subsuperficiales de Flujo Vertical en la Purificación de Aguas Residuales Domésticas.* Doctor, Universidad Cental Marta Abreu de las Villas.

PETITJEAN, A., WANKO, A., FORQUET, N., MOSE, R., LAWNICZAK, F. & SADOWSKI, A. 2011. Diphasic transfer of oxygen in vertical flow filters: a modelling approach. *Water Science and Technology,* 64**,** 109-116.

PUIGAGUT, J., SALVADO, H., GARCIA, D., GRANES, F. & GARCIA, J. 2007. Comparison of microfauna communities in full scale subsurface flow constructed wetlands used as secondary and tertiary. *Water Research,* 41**,** 1645-1652.

RAŽIĆ, S. & ĐOGO, S. 2010. Determination of chromium in Mentha piperita L. and soil by graphite furnace atomic absorption spectrometry after sequential extraction and microwave-assisted acid digestion to assess potential bioavailability. *Chemosphere,* 78**,** 451-456.

RECLO, M., YILMAZ, E., SOYLAK, M., ANDRUCH, V. & BAZEL, Y. 2017. Ligandless switchable solvent based liquid phase microextraction of nickel from food and cigarette samples prior to its micro-sampling flame atomic absorption spectrometric determination. *Journal of Molecular Liquids,* 237**,** 236-241.

REDDY, K. R., XU, C. Y. & CHINTHAMREDDY, S. 2001. Assessment of electrokinetic removal of heavy metals from soils by sequential extraction analysis. *Journal of Hazardous Materials,* 84**,** 279-296.

REED, S. & CRITES, R. 1995. *Natural Systems For Waste Management and Treatment. ,* New York.

SAEED, T. & SUN, G. 2011. A comparative study on the removal of nutrients and organic matter in wetland reactors employing organic media. *Chemical Engineering Journal,* 171**,** 439-447.

SCHINTU, M., MARRUCCI, A., MARRAS, B., GALGANI, F., BUOSI, C., IBBA, A. & CHERCHI, A. 2016. Heavy metal accumulation in surface sediments at the port of Cagliari (Sardinia, western Mediterranean): Environmental assessment using sequential extractions and benthic foraminifera. *Marine Pollution Bulletin,* 111**,** 45-56.

SHAHID, M., SHAMSHAD, S., RAFIQ, M., KHALID, S., BIBI, I., NIAZI, N. K., DUMAT, C. & RASHID, M. I. 2017. Chromium speciation, bioavailability, uptake, toxicity and detoxification in soil-plant system: A review. *Chemosphere,* 178**,** 513-533.

SPOSITO, G. 1989. The Chemistry of Soils, 277 p. Oxford University Press, London.

STOTTMEISTER, U., WIESZNER, A., KUSCHK, P., KAPPELMEYER, U., KASTNER, M., BEDERSKI, O., MULLER, R. A. & MOORMANN, H. 2003. Effects of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment. *Biotechnology Advances,* 22**,** 93-117.

STOTTMEISTER, U. W., A; KUSCHK, P; KAPPELMEYER, U; KÄSTNER, M; BEDERSKI, O; MÜLLER, R.A; MOORMANN, H 2003. Effects of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment. *Biotechnology Advances,* 2.

SVOBODA, I. F., SYM, G. & CLARK, J. 2000. *Biotransformation of dairy wash water*.

SZKOKAN-EMILSON, E. J., WATMOUGH, S. A. & GUNN, J. M. 2014. Wetlands as long-term sources of metals to receiving waters in mining-impacted landscapes. *Environmental Pollution,* 192**,** 91-103.

TANG, X. Q., HUANG, S. L. & FCIWEM, M. S. 2009. Comparison of phosphorus removal between vertical subsurface flow constructed wetlands with different substrates. *Water and Environment Journal,* 23**,** 180-188.

TANG, Z., CHAI, M., CHENG, J., JIN, J., YANG, Y., NIE, Z., HUANG, Q. & LI, Y. 2017. Contamination and health risks of heavy metals in street dust from a coal-mining city in eastern China. *Ecotoxicology and Environmental Safety,* 138**,** 83-91.

TESSIER, A., CAMPBELL, P. G. C. & BISSON, M. 1982. Particulate trace metal speciation in stream sediments and relationships with grain size: Implications for geochemical exploration. *Journal of Geochemical Exploration,* 16**,** 77-104.

TIETZ, A., KIRSCHNER, A., LANGERGRABER, G., SLEYTR, K. & HABERL, R. 2007. Characterisation of microbial biocoenosis in vertical subsurfaceflow constructed wetlands. *Science of the Total Environment,* 380**,** 163–172.

VAN STADEN, J. F. & TALJAARD, R. E. 2004. Determination of Lead(II), Copper(II), Zinc(II), Cobalt(II), Cadmium(II), Iron(III), Mercury(II) using sequential injection extractions. *Talanta,* 64**,** 1203-1212.

VERA, L. M. & GONZÁLEZ, F. 2015. Eliminación de cromo utilizando humedales

de flujo sub-superficial horizontal. *Afinidad,* LXXII**,** 213-217.

VILAR, A. GUTIÉRREZ, J. ANTEZANA, CARRA, P. & ÁLVAREZ, A. 2003. Estudio comparativo de diferentes métodos de

extracción secuencial para metales pesados en suelos. *Boletín Geológico y Minero,* 114**,** 453-461.

VYMAZAL, J. 2007. Removal of nutrients in various types of constructed wetlands. *Science of the Total Environment,* 380**,** 48-65.

WEN, X., WANG, Q., ZHANG, G., BAI, J., WANG, W. & ZHANG, S. 2017. Assessment of heavy metals contamination in soil profiles of roadside Suaeda salsa wetlands in a Chinese delta. *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C,* 97**,** 71-76.

YEVDOKIMOV, I., RUSER, R., BUEGGER, F., MARX, M. & MUNCH, J. C. 2006. Microbial immobilisation of ^1^3C rhizodeposits in rhizosphere and root-free soil under continuous ^1^3C labelling of. *Soil Biology and Biochemistry,* 38**,** 1202-1211.

ZANIN, E., SCAPINELLO, J., DE OLIVEIRA, M., RAMBO, C. L., FRANSCESCON, F., FREITAS, L., DE MELLO, J. M. M., FIORI, M. A., OLIVEIRA, J. V. & DAL MAGRO, J. 2017. Adsorption of heavy metals from wastewater graphic industry using clinoptilolite zeolite as adsorbent. *Process Safety and Environmental Protection,* 105**,** 194-200.

ZHANG, G., BAI, J., ZHAO, Q., JIA, J. & WEN, X. 2017. Heavy metals pollution in soil profiles from seasonal-flooding riparian wetlands in a Chinese delta: Levels, distributions and toxic risks. *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C,* 97**,** 54-61.

ZHANG, P., HAI, R. T., ZHOU, D. K., HE, Y. Q. & BAI, Z. Y. 2011. Synergism of Novel Sequence Bio-ecological Process and Biological Aerated Filter for Sewage Treatment in Cold Climate. *Chinese Journal of Chemical Engineering,* 19**,** 881-890.

# ANEXOS

**Anexso 1.** Estufa WTB Binder y saranda IKA-WERKE.

**Anexso 2.** Planta de tratamiento de residuales INPUD.

**Anexso 3.** Datos estadísticos.

Análisis de varianza de un factor para las hojas de las Heliconias

RESUMEN

| Grupos | Cuenta | Suma | Promedio | Varianza |
|---|---|---|---|---|
| H Rostrata | 2 | 28,4960355 | 14,2480177 | 0,00094926 |
| H Wagneriana | 2 | 27,77 | 13,885 | 0,25205 |

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones Suma de cuadrados Grados de libertad Promedio de los cuadrados F Probabilidad Valor crítico para F

Entre grupos 0,13178188 1 0,13178188 1,04175707 0,41477757 18,5128205

Dentro de los grupos 0,25299926 2 0,12649963

Total 0,38478114 3

Análisis de varianza de un factor para el tallo de Heliconias

RESUMEN

| Grupos | Cuenta | Suma | Promedio | Varianza |
|---|---|---|---|---|
| H Rostrata | 2 | 111,869888 | 55,9349438 | 124,943225 |
| H wagneriana | 2 | 33,81 | 16,905 | 1,46205 |

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones Suma de cuadrados Grados de libertad Promedio de los cuadrados F Probabilidad Valor crítico para F

Entre grupos 1523,33651 1 1523,33651 24,1024199 0,03907401 18,5128205

Dentro de los grupos 126,405275 2 63,2026377

Total 1649,74179 3

Análisis de varianza de un factor para níquel en raíces y rizomas deHeliconias

RESUMEN

| Grupos | Cuenta | Suma | Promedio | Varianza |
|---|---|---|---|---|

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| H Rostrata | 2 | 420,95978 | 210,47989 | 3,98208978 |
| H Wagneriana | 2 | 33,81 | 16,905 | 1,46205 |

ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Entre grupos | 37471,2381 | 1 | 37471,2381 | 13765,7149 | 7,2636E-05 | 18,5128205 |
| Dentro de los grupos | 5,44413978 | 2 | 2,72206989 | | | |
| | | | | | | |
| Total | 37476,6822 | 3 | | | | |

Análisis de varianza de un factor para cromo en las raíces y rizomas de Heliconias

RESUMEN

| Grupos | Cuenta | Suma | Promedio | Varianza |
|---|---|---|---|---|
| Columna 1 | 2 | 650,81 | 325,405 | 1878,23205 |
| Columna 2 | 2 | 289,06 | 144,53 | 15,68 |

ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Entre grupos | 32715,7656 | 1 | 32715,7656 | 34,5483473 | 0,02774594 | 18,5128205 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| Dentro de los grupos | 1893,91205 | 2 | 946,956025 |
| Total | 34609,6777 | 3 | |